

# Les biocapteurs analytiques destinés à un usage environnemental

*Définition, place au sein des autres méthodes analytiques et perspectives d'usages*



**LES BIOCAPTEURS ANALYTIQUES DESTINES  
A UN USAGE ENVIRONNEMENTAL**

**DEFINITION, PLACE AU SEIN DES AUTRES METHODES  
ANALYTIQUES ET PERSPECTIVES D'USAGES**

**RAPPORT FINAL**

**mai 2018**

**E. LEFRANCOIS - ASCONIT**  
**I. BAZIN - Les Mines D'Alès**

 **ASCONIT**  
ingénierie écologique

  
**IMT Mines Alès**  
École Mines-Télécom

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

**Avertissement :**

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

**Remerciements :**

Les auteurs remercient Julie Carimalo et plus globalement le CTV AllEnvi ([www.cvt-allenvi.fr](http://www.cvt-allenvi.fr)) pour son aimable et fructueuse contribution à l'étude.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :

**RECORD**, Les biocapteurs analytiques destinés à un usage environnemental : définition, place au sein des autres méthodes analytiques et perspectives d'usages, 2018, 115 p, n°16-0152/1A

- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)  
[www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)

© RECORD, 2018

**Comité de suivi de l'étude :**

Rémy BAYARD - INSA Lyon / RECORD, Julie CHARTON BISETTA – EDF, Bénédicte COUFFIGNAL – RECORD, Nadia DJEMEL - TOTAL RETIA, Nadine DUMOULIER – SUEZ, Laurent DUPONT – SNCF, Cécile GRAND – ADEME, Muriel ISMERT – EDF, Fabien LAURENT – SOLVAY, Philippe MARCHAL – SOLVAY, Agnès PILAS-BEGUE – SOLVAY, Danielle VENDITTI - TREDI

## **RESUME**

Les biocapteurs sont des appareils autonomes et intégrés, capables de fournir une mesure spécifique, quantitative ou semi-quantitative, d'un analyte, par le moyen d'un élément biologique de reconnaissance, directement en contact avec un élément de transduction. L'élément biologique constituant le récepteur peut être une cellule entière (procaryote ou eucaryote, parfois génétiquement modifiée), une molécule biologique (protéine, séquence d'ADN) ou une molécule synthétique biomimétique (enzyme ou anticorps recombinants, ADN synthétique, aptamère). En présence de l'organisme, la molécule ou le groupe de molécule cible, le récepteur émet un signal électrochimique, optique, mécanique ou magnétique qui est capté par le transducteur et converti en une mesure quantitative ou semi-quantitative.

Depuis le premier biocapteur enzymatique et électrochimique conçu pour la mesure de la glycémie, de nombreux autres biocapteurs ont été développés et commercialisés dans les domaines médicaux et agroalimentaires. Dans le domaine de l'environnement, les applications sont nombreuses et concernent autant l'eau, l'air que les matrices solides comme les sols et les déchets. Le besoin de disposer d'outils de mesure ou d'outils d'alerte, rapides, peu coûteux, utilisables *in situ*, sans compétences particulières, éventuellement capables de télétransmettre les résultats est croissant. Cependant la variabilité et la complexité des échantillons issus de l'environnement compliquent le développement de biocapteurs fiables, donnant des résultats reproductibles. De plus, la réglementation qui prévaut pour la surveillance de l'environnement est souvent très contraignante quant aux méthodes analytiques à mettre en œuvre. Ce sont là, les principales raisons qui expliquent le dynamisme de la recherche visant le développement de cette technologie y compris dans le domaine de l'environnement et le peu de transferts industriels aboutissant à la commercialisation d'appareils. Toutefois, la rapide évolution de toutes les technologies impliquées dans la conception d'un biocapteur et la demande sociétale en matière de surveillance environnementale ne peuvent qu'être favorables à l'essor de cette technologie.

## **MOTS CLES**

Biocapteurs ; Environnement ; Eau ; Air ; Sol ; Bioindication ; Ecotoxicologie ; 17 $\beta$ œstradiol ; Bisphénol A ; Mercure ; Glyphosate ; Phénol ; Hydrocarbures

---

## **SUMMARY**

Biosensors are autonomous and integrated devices, able to provide a specific quantitative or semi-quantitative measurement of an analyte. They are composed of a biosensing element (i.e. enzyme, tissue, living cell) that convert selectively a physical or biological event into a measurable signal. This biomediator can also be a biomimic or biologically derived material like enzymes, antibodies or nucleic acids created with genetic engineering. The signal resulting from the analyte's interaction with the biological element can be physicochemical, optical, piezoelectric, electrochemical, etc. It is transformed by the transducer into a signal that can be measured and quantified thanks to associated electronics or signal processor.

Since the first enzyme-based electrochemical biosensor was reported for the measurement of blood glucose level, many other biosensors have been developed in many fields namely food industry, medical field, marine sector. In the field of environment, applications are numerous and concern as much water, air as solid matrices such as soil and waste.

Nowadays, there is obviously a need of fast, inexpensive, *in situ* and without special skills usable tools for a more efficient environmental monitoring. However, the variability and complexity of environmental samples complicate the development of reliable biosensors, giving reproducible results. In addition, current regulations for environmental monitoring are often very restrictive regarding analytical methods. These are the reasons why a paradox is observable: Research is very dynamic and prolific even in the field of the environment, while there are only few industrial transfers leading to the commercialization of devices.

Nevertheless, nanomaterial and all the technologies involved in biosensor development show great attractive prospects. In the same time, the societal demand for environmental monitoring is growing. This will probably promote biosensor development and their use in the near future.

## **KEY WORDS**

Biosensors ; Environment ; Water ; Air ; Soil ; Bioindication ; Ecotoxicology ; 17 $\beta$ œstradiol ; Bisphenol A ; Mercury ; Glyphosate ; Phenol ; Hydrocarbons



## **SOMMAIRE**

I.	Contexte et Objectif de l'étude.....	9
1.	Contexte historique et économique.....	9
2.	Objectifs de l'étude.....	11
II.	Méthodologie.....	11
1.	Les différentes étapes de l'étude.....	11
2.	Le recueil des publications.....	12
3.	Les entretiens.....	13
a.	Concepteurs de biocapteurs.....	13
b.	Les Sociétés d'Accélération du Transfert de Technologies (SATTs) et sociétés de transfert.....	13
c.	Les entreprises impliquées dans le suivi environnemental.....	14
d.	Les organismes et services de l'État impliqués dans l'innovation.....	14
4.	Les programmes de recherche nationaux et européens.....	14
a.	Les projets ANR.....	14
b.	Les projets financés par l'ADEME.....	15
c.	Les projets H2020.....	15
III.	Ce que nous apprend la bibliométrie.....	15
1.	Analyse descriptive de la bibliographie.....	15
2.	Contribution des pays et organismes de recherche dans le domaine des biocapteurs.....	18
IV.	Définition et classification des biocapteurs.....	21
1.	Définition.....	21
2.	Classification : les différents types de biocapteurs.....	22
3.	Les biocapteurs d'effets.....	25
V.	Les biocapteurs adaptés à la surveillance environnementale.....	26
1.	Biocapteurs à cellule entière.....	26
a.	Les biocapteurs microbiens.....	26
b.	Les biocapteurs à levures.....	29
c.	Les biocapteurs algaux.....	32
d.	Les biocapteurs intégrant d'autres compartiments biologiques.....	33
2.	Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant des propriétés catalytiques.....	33
3.	Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant une affinité vis-à-vis de la molécule cible.....	34
a.	Affinité de type anticorps/antigène.....	34
b.	Affinité de type acide nucléique/brin complémentaire.....	36
c.	Affinité liée à la configuration spatiale des molécules.....	39
4.	Les autres technologies associées aux biocapteurs.....	41
a.	Les nanoparticules et nanomatériaux.....	41
b.	La microfluidique.....	42
c.	L'électronique organique.....	42
VI.	Avantages et inconvénients des biocapteurs.....	42
1.	Rappel sur les méthodes analytiques traditionnelles (d'après Hassan et al. 2016).....	43
a.	Chromatographie gazeuse.....	43
b.	Chromatographie liquide haute performance (high performance liquid chromatography ou HPLC).....	43
c.	Spectrométrie de masse.....	43
d.	Spectroscopie de fluorescence (UV ou rayons X).....	44
e.	Spectrométrie d'absorption atomique (Atomic Absorption Spectrometry ou AAS).....	44
2.	Les méthodes écotoxicologiques et de bioindication.....	44
a.	Les méthodes écologiques basées sur la mesure des effets sur les populations <i>in situ</i> (bioindication).....	44
b.	Les méthodes écotoxicologiques (bioessais).....	47
3.	Place des biocapteurs parmi les méthodes d'évaluation environnementale.....	49
4.	Avantages communs à tous les biocapteurs.....	51
5.	Inconvénients communs à tous les biocapteurs à usage environnemental.....	51
6.	Les avantages et inconvénients spécifiques à chaque type de biocapteurs.....	52
VII.	Les différentes matrices cible.....	53
1.	L'eau.....	54
2.	L'air.....	54
a.	Les enjeux de la matrice air.....	54
b.	Les méthodes analytiques actuellement employées.....	54
c.	Les biocapteurs sensoriels développés ou en cours de développement.....	55

d.	Les biocapteurs conçus pour la surveillance de molécules toxiques .....	57
3.	Les solides (sol, déchets solides).....	57
VIII.	Biocapteurs développés ou en cours de développement ciblés sur des groupes de molécules d'intérêt.....	62
1.	Les perturbateurs endocriniens.....	62
a.	Définition .....	62
b.	Origine.....	62
	Famille chimique .....	63
	Sources potentielles.....	63
	Exemples.....	63
	Phtalates.....	63
	Plastiques, cosmétiques.....	63
	Dibutyl phtalate .....	63
	Alkylphénols.....	63
	Détergents, plastiques, pesticides .....	63
	Nonylpheno.....	63
	Retardateurs de flamme.....	63
	Mousses pour les mobiliers, tapis, équipements électroniques .....	63
	Polybromodiphényls (PBDE) .....	63
	Hydrocarbures aromatiques polycycliques.....	63
	Sources de combustion : fumée de cigarette, émissions des moteurs diesels, incendies .....	63
	Benzo(a)pyrène .....	63
	Polychlorobiphényls .....	63
	Transformateurs électriques.....	63
	PCB, Arochlor .....	63
	Anciens pesticides .....	63
	Résiduels de stockage, pollution rémanente.....	63
	DDT, dieldrine, chlordane.....	63
	Pesticides actuels .....	63
	Agriculture, nettoyages urbains, jardins particuliers .....	63
	Cf. tableau précédent.....	63
	Dérivés phénoliques.....	63
	Désinfectants, plastiques, cosmétiques .....	63
	Bisphénols A, parabens, halogéno-phénols .....	63
c.	Les biocapteurs développés pour la détection des perturbateurs endocriniens .....	63
d.	Autres approches concernant les perturbateurs endocriniens : les bioessais .....	64
2.	Le glyphosate et son principal métabolite l'AMPA .....	68
a.	Définition .....	68
b.	Origine.....	68
c.	Aspects réglementaires .....	68
d.	Les biocapteurs développés pour la détection du glyphosate .....	68
3.	Le mercure (Hg) et autres Éléments Traces Métalliques (EMT).....	71
4.	Les hydrocarbures, les composés chlorés et phénolés .....	74
a.	Définition .....	74
b.	Les biocapteurs développés pour la détection des composés phénolés (Karim and Fakhruddin 2012).....	75
IX.	Bilan et Perspectives .....	78
1.	Bilan.....	78
2.	Perspectives.....	79
a.	Les molécules cible .....	79
b.	Les matrices cible .....	79
c.	Les nouvelles technologies .....	80
	BIBLIOGRAPHIE .....	82
	Annexe 1.....	86
	Annexe 2.....	93
	Annexe 3 .....	96
	Annexe 4 .....	99
	Annexe 5 .....	103
	Annexe 6 .....	108
	Annexe 7 .....	113

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1 : Liste des SATT et aperçu des projets déposés concernant les biocapteurs (au sens large)	13
Tableau 2 : Exemples de tests immunographique sur bandelette développés (d'après Liu, Zheng, and Li 2013)	35
Tableau 3 : Les bioindicateurs couramment employés (* méthode DCE ou DCSMM compatible) (liste non exhaustive)	45
Tableau 4 : Quelques exemples de méthodes écotoxicologiques et de biomarqueurs employées <i>in situ</i>	47
Tableau 5 : Avantages et inconvénients inhérents aux types de transducteurs (d'après Hassan et al. (2016b))	52
Tableau 6 : Caractéristiques des différents types de biorécepteurs (d'après Bazin et al. (2017) et Hassani et al. (2017))	53
Tableau 7 : Projets de recherche développés dans le cadre du programme « Bioindicateurs de la qualité des sols » porté par l'ADEME et ayant fait l'objet de fiches outils	60
Tableau 8 : Exemples de famille de composés perturbateurs endocriniens et leurs sources de diffusion dans l'environnement	63
Tableau 9 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du 17 $\beta$ œstradiol principalement	65
Tableau 10 : Autre méthode analytique disponible pour la détection du 17 $\beta$ oestradiol principalement	66
Tableau 11 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du bisphenol A principalement	67
Tableau 12 : Autres méthodes analytiques disponibles et commercialisées pour la détection du bisphenol A principalement	67
Tableau 13 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du glyphosate	70
Tableau 14 : Autre méthode analytique disponible et commercialisée pour la détection du glyphosate	70
Tableau 15 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du mercure (et parfois d'autres ETM et polluants)	72
Tableau 16 : Autre biocapteur disponible et commercialisé pour la détection d'EMT	73
Tableau 17 : Autres biocapteurs en cours de développement pour la détection d'EMT	73
Tableau 18 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection de composés phénolés	76
Tableau 19 : Autres méthodes analytiques disponibles et commercialisées pour la détection de composés phénolés et chlorés	77
Tableau 20 : Analyse AFOM concernant les biocapteurs à usage environnemental	78
Figure 1 : Répartition sociétés commercialisant des biocapteurs pour la détection du glucose	9
Figure 2 : Répartition des sociétés commercialisant des biocapteurs à usage environnementaux	10
Figure 3 : Marchés visés par les biocapteurs commercialisés dans le monde (d'après Bahadır and Sezgintürk 2015)	10
Figure 4 : Méthodologie d'analyse	12
Figure 5 : Répartition des domaines d'application des biocapteurs développés au sein des projets de recherche H2020 sur la période 2014-2017	15
Figure 6 : Distribution des documents par années de publication	16
Figure 7 : Distribution des articles de synthèse par revue	17
Figure 8 : Nombre de publications par pays concernant l'air et le sol, de 2005 à 2017	18
Figure 9 : Nombre de publications par pays concernant les biocapteurs fluorescents et/ou les immunocapteurs, de 2005 à 2017	19
Figure 10 : Nombre de publications par organismes de recherche concernant les biocapteurs fluorescents et/ou les immunocapteurs, de 2005 à 2017	19
Figure 11 : Nombre de publications par pays concernant les biocapteurs électrochimiques, de 2005 à 2017	20
Figure 12 : Nombre de publications par organismes de recherche concernant les biocapteurs électrochimiques, de 2005 à 2017	20
Figure 13 : Éléments constitutifs d'un biocapteur (Hassani et al. 2017)	21
Figure 14 : Différents types de biorécepteurs et transducteurs (d'après Mehrotra 2016)	24

Figure 15 : Répartition des types de transducteurs parmi les biocapteurs commercialisés pour un usage environnemental autre que la mesure de la DBO .....	25
Figure 16 : Schéma d'un biocapteur microbien (Naoufel Haddour, com. pers.) .....	26
Figure 17 : Principe technologique du biocapteur à levure (d'après Jarque et al. 2016).....	30
Figure 18 : Bioessais intégrant des levures pour la détection de polluants environnementaux (Jarque et al. 2016).....	31
Figure 19 : Schéma représentant le principe fonctionnel du Fluorotox (Arnatronic) .....	33
Figure 20 : Complexe anticorps recombinant - ARNm - ribosome (d'après Bazin et al. 2017).....	34
Figure 21 : Caractéristiques principales (type d'aptamer, molécule cible et type de transducteur) des quinze aptacapteurs recensés par Bazin et al. (2017).....	36
Figure 22 : Biocapteurs basés sur la séparation de molécules d'ADN par action catalytiques des desoxyribozymes (d'après Saidur, Aziz, and Basirun 2017).....	37
Figure 23: Biocapteurs basés sur la formation de complexes stables entre base nucléique et ion métallique (d'après Saidur, Aziz, and Basirun 2017).....	37
Figure 24 : Principe technologique d'une puce à ADN développée par l'IPBS (Université de Toulouse) .....	39
Figure 25 : Schéma illustrant la sélection et la synthèse de peptides affines par la méthode Phage Display (Bazin).....	40
Figure 26 : Cavité spécifique de la molécule cible au sein du polymère .....	41
Figure 27 : Les méthodes d'évaluation d'une contamination dans l'environnement .....	50
Figure 28 : Sources d'émanations atmosphériques d'origine anthropique (Wehrenfennig et al. 2013) .....	56
Figure 29 : Cycle enzymatique à l'origine de la détection du formaldéhyde.....	57
Figure 30 : Principe des bioessais à cellule entière génétiquement modifiée.....	58
Figure 31 : Principe des tests cellulaires <i>in vitro</i> basés sur l'interaction ligand/récepteur au sein d'une cellule, à l'origine du test CALUX .....	64
Figure 32 : Représentation schématique du cycle du mercure dans l'environnement .....	71
Figure 33 : Schéma représentant le principe du biocapteur basé sur un composé magnétique de CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> @Ag enroulé autour de nanotubes de carbone .....	72

## INTRODUCTION

Cette étude menée par le bureau d'étude ASCONIT et l'École des Mines d'Alès a été mandatée par l'association RECORD dans le but d'établir un état de l'art concernant la conception et le développement des biocapteurs à usages environnementaux sur différentes matrices (gaz, liquides et solides). Plusieurs études ont été menées sur des sujets connexes ces dernières années, témoignant à la fois de l'intérêt des industriels, gestionnaires et chercheurs pour le sujet mais aussi de leurs interrogations quant aux réelles perspectives pour l'évaluation environnementale.

En cours de route, il est apparu que le CTV Allenvi<sup>1</sup>, centre de ressources et d'expertise de l'Alliance nationale de recherche pour l'Environnement, avait également lancé une première étude prospective sur les biocapteurs à usages environnementaux et dans le domaine de l'agriculture et l'agroalimentaire, conduite par Julie Carimalo, chef de projet en intelligence économique. Par souci d'efficacité et pour plus de cohérence face aux personnes ressources rencontrées, ces deux études ont été mutualisées à partir de juillet 2017.

Les principales difficultés rencontrées concernent :

- l'acquisition d'informations sur les produits développés et/ou commercialisés à l'étranger en Europe, et plus encore aux USA, en Australie et en Asie ;
- la littérature scientifique faisant état de développement de biocapteurs, qui est foisonnante, mais dans laquelle
  - o le stade de maturité technologique n'est pas toujours précisé ;
  - o les travaux décrits ne concernent qu'un segment de la technologie (i.e. le biorécepteur, l'amélioration de l'immobilisation du biorécepteur,...) ou un stade bien en amont du développement d'un biocapteur au sens strict du terme ;
  - o l'usage environnemental de la technologie développée n'est qu'une perspective qui n'a pas été validée par des tests sur échantillons naturels ;
- la confidentialité de certaines données surtout lorsque le produit est dans la phase de validation terrain à large échelle qui précède son déploiement et sa commercialisation ;
- l'extrême technicité du sujet et la grande variabilité des connaissances scientifiques et techniques requises dès que l'on cherche à comprendre précisément les spécificités techniques de chaque type de biocapteurs.

Nous espérons néanmoins que ce rapport répondra aux questions qui ont motivé cette étude et qu'il apportera un éclairage nouveau ou au moins étayé sur les biocapteurs et leurs usages environnementaux.

---

<sup>1</sup> Le CTV Allenvi fédère la recherche publique française sur les questions environnementales, et notamment sur l'alimentation, l'eau, le climat et la qualité environnementale des territoires.

# I. Contexte et Objectif de l'étude

## 1. Contexte historique et économique

Les premiers biocapteurs ont été conçus en 1967 (Mehrotra 2016). Aujourd'hui, le marché global des biocapteurs a été estimé à 12 milliards de dollars en 2015, tous usages confondus (Bahadır and Sezgintürk 2015). Ce marché connaît une forte croissance : + 11,5 % en 2016, selon une étude Frost & Sullivan.

Cependant, ce marché est largement porté par le segment du diagnostic médical qui mobilise près de 90% des biocapteurs, plus particulièrement celui de la surveillance de la glycémie (85% des biocapteurs) avec environ une centaine de modèles de biocapteurs à glucose commercialisés. Le premier biocapteur commercialisé, l'a été en 1973 par la société américaine Yellow Springs Instruments. Il permettait la mesure du glucose. Les États-Unis hébergent encore le plus grand nombre de sociétés commercialisant ces biocapteurs (Figure 1), qui ont aujourd'hui bien d'autres applications médicales : détection de marqueurs du fonctionnement cardiaque, de certains cancers, de pathologies dentaires, diagnostic de maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives, d'infections virales ou encore détection de drogues ou étude cinétique médicamenteuse (Mehrotra 2016).

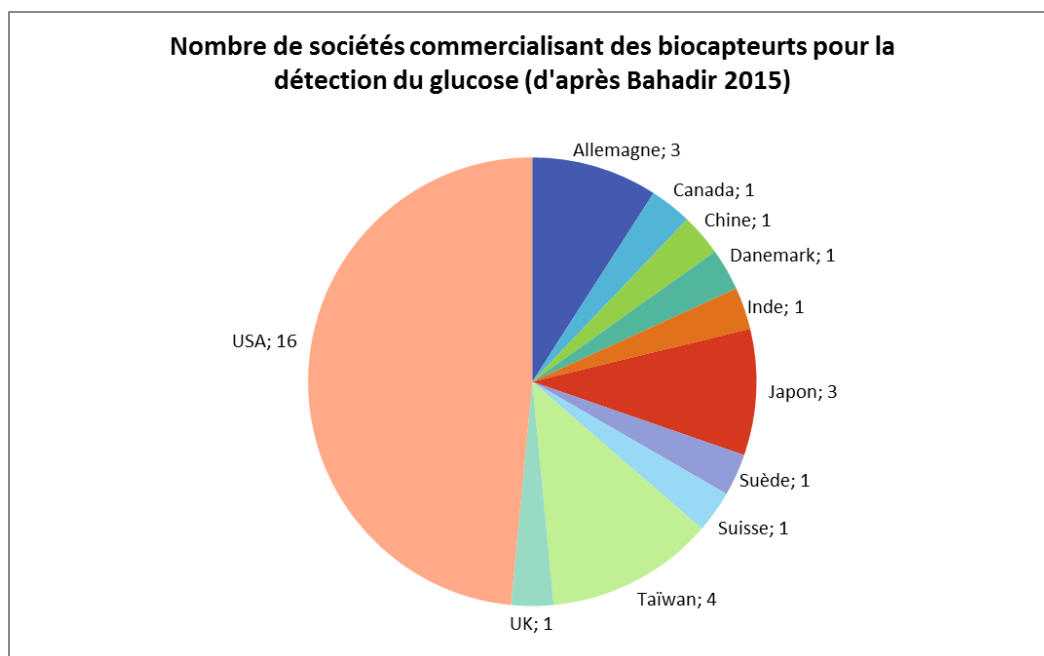


Figure 1 : Répartition sociétés commercialisant des biocapteurs pour la détection du glucose

En dehors du médical, les principaux biocapteurs concernent les segments de la sécurité industrielle, en particulier agroalimentaire (détection de pathogènes, de pesticides, de métaux toxiques, etc.), dans les denrées alimentaires) et de la surveillance environnementale (Mehrotra 2016).

Bien que plus modeste, le marché de la surveillance environnementale pourrait présenter un taux de croissance supérieur à la moyenne du marché, entre 13 et 15 % selon l'étude Frost & Sullivan (Rivollet et Serre, 2015). Il est lui-même dominé par le marché de la mesure de la Demande Biologique en Oxygène (DBO) c'est-à-dire de la contamination organique dans l'environnement.

Le premier biocapteur microbien destiné à la mesure de DBO fut commercialisé par Nisshin Denki (Electric) Co. Ltd. en 1983. Depuis d'autres biocapteurs ont été développés principalement par des sociétés américaines et européennes. Ils permettent d'obtenir un résultat en 1 à 40 minutes contre 5 jours par la méthode traditionnelle au laboratoire. La limite inférieure de détection est de 0 à 20 mg d'oxygène/L en fonction des appareils et la limite supérieure est de 22 à 1000 mg d'oxygène/L en général, pouvant atteindre 5000 mg d'oxygène/L (Bahadır and Sezgintürk 2015).

Bahadır and Sezgintürk (2015) rapportent que 17 sociétés commercialisent des biocapteurs permettant la détection de polluants comme les nitrates, les dioxines et les composés dioxine-like ou encore *Escherichia coli* dans l'eau ou les sols. La répartition de ces sociétés dans le monde est illustrée par la Figure 2 : Répartition des sociétés commercialisant des biocapteurs à usage environnementaux Figure 2 ci-dessous :

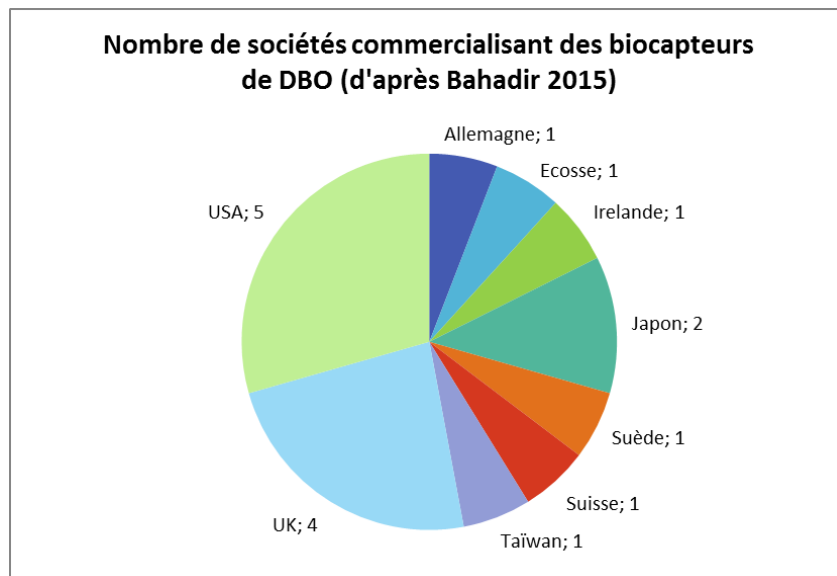


Figure 2 : Répartition des sociétés commercialisant des biocapteurs à usage environnementaux

Enfin, il existe des marchés marginaux comme celui de la biodéfense (détection spécifique en temps réel d'agents représentant une menace biologique : bactéries, toxines, virus), ou de la recherche (identification et localisation d'analytes dans les plantes).

La Figure 3 résume les marchés potentiels ciblés par les biocapteurs commercialisés dans le monde.

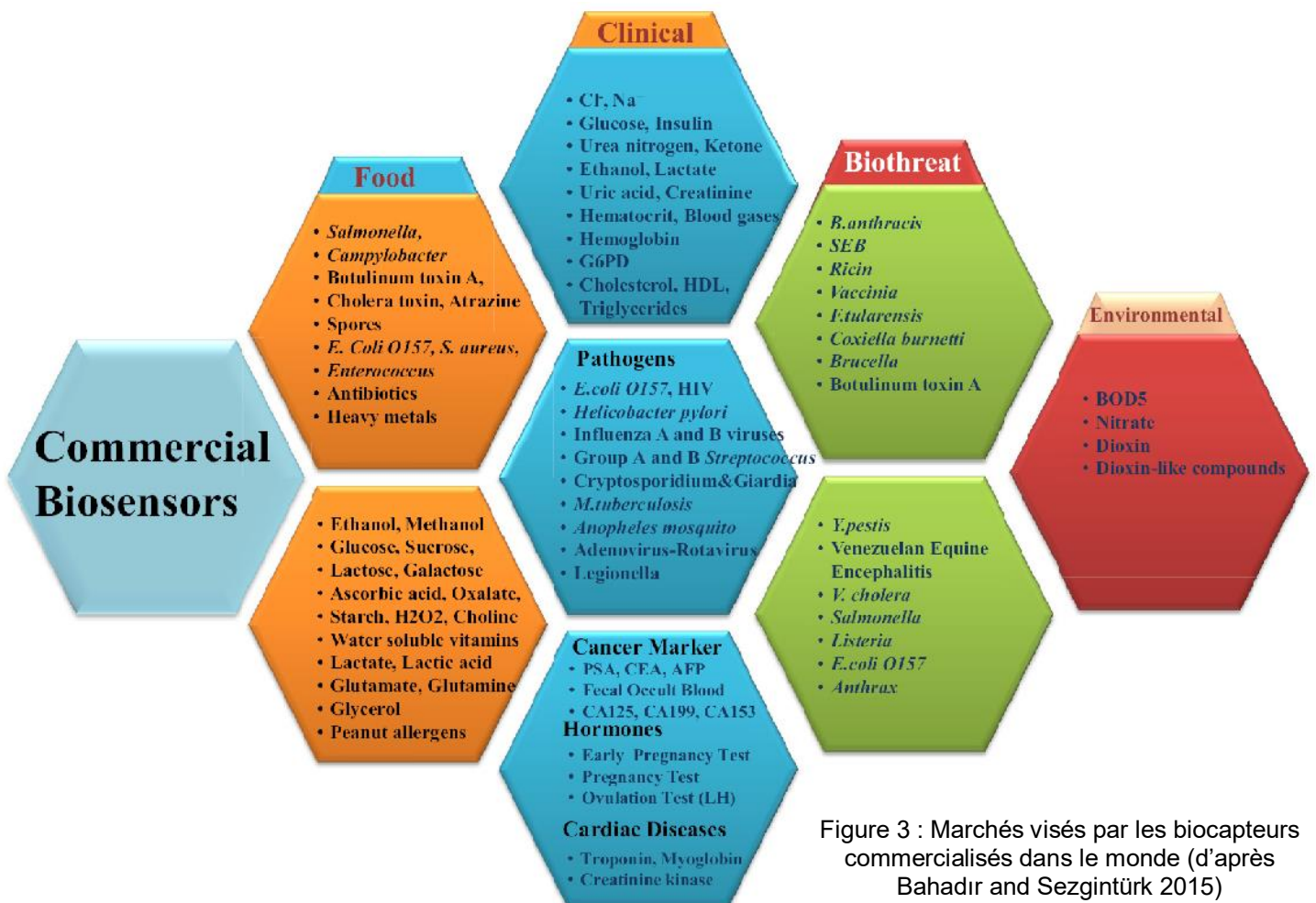


Figure 3 : Marchés visés par les biocapteurs commercialisés dans le monde (d'après Bahadır and Sezgintürk 2015)

Ces quelques rappels historiques et chiffres-clés permettent de comprendre que le secteur de la recherche s'intéresse depuis de nombreuses années à la conception et au développement de biocapteurs dans tous les domaines où leurs propriétés essentielles (performance analytique, simplicité d'usage, usage *in situ*,...) peuvent présenter un net avantage par rapport aux méthodes traditionnelles.

## 2.Objectifs de l'étude

Cette étude vise à réaliser un état de l'art concernant la conception et le développement des biocapteurs à usages environnementaux sur différentes matrices (gaz, liquides et solides). Les résultats doivent apporter des éléments descriptifs détaillés sur les différentes technologies développées ou en cours de développement à l'échelle internationale : principe technologique, molécules détectées, robustesse, sensibilité, spécificité, avantages et inconvénients d'ordre scientifique, technique, mais aussi économique, par rapport aux méthodes analytiques classiques.

Enfin pour chaque type de biocapteurs étudiés, le niveau de maturité de la technologie et ses applications seront analysés et mises en perspectives dans le but d'identifier les perspectives de recherche.

Les données doivent permettre de réaliser une analyse prospective permettant aux membres de RECORD et aux destinataires du rapport et du webinaire en général de mieux appréhender le paysage des biocapteurs et ainsi d'adapter leur stratégie.

La réunion de lancement qui a eu lieu le 13 janvier 2017 a permis de préciser le périmètre de l'étude. Il a été convenu que les biocapteurs concernant le domaine de l'écotoxicologie et le domaine médical ne seraient pas considérés. Les biocapteurs à usage industriel pourront être pris en compte lorsque leur usage impacte *in fine* la qualité des rejets.

Les premiers résultats ont été présentés au cours de la réunion intermédiaire du 28 avril 2017, d'où a émergé le besoin de replacer les biocapteurs au sein de toutes les méthodes biologiques d'évaluation de l'environnement existantes. Des recherches plus approfondies concernant les biocapteurs développés pour la détection de certaines molécules comme les perturbateurs endocriniens, les éléments traces métalliques et le mercure en particulier, les hydrocarbures, les composés chlorés et phénolés et le glyphosate et ses métabolites ont été demandées. Les premiers résultats de ces recherches complémentaires ont été abordés lors de la réunion téléphonique intermédiaire du 4 juillet 2017.

Le présent rapport final compile l'ensemble des éléments recueillis au cours de l'étude. Il est l'objet de la réunion de restitution du 30 novembre 2017.

## II. Méthodologie

### 1.Les différentes étapes de l'étude

L'étude s'est essentiellement organisée selon deux phases de durée équivalente. Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à réunir les publications académiques concernant les biocapteurs à usage environnemental. Cette bibliographie a été analysée afin de :

- définir et décrire les différents types de biocapteurs,
- préciser les avantages et inconvénients de chacun d'entre eux,
- identifier les équipes et organismes de recherche travaillant sur le sujet et les pays concernés,
- cibler les personnes ressources à interroger,
- enfin, faire une analyse bibliométrique de ces publications afin d'en tirer une première vision du paysage de la recherche académique concernant les biocapteurs.

Au cours d'une deuxième phase, qui a coïncidé avec la mutualisation de nos travaux avec ceux du CTV Allenvi, nous avons :



- précisé la place des biocapteurs au sein des méthodes biologiques d'évaluation de l'environnement,
- réalisé 21 entretiens téléphoniques et 11 en présentiel, destinés à croiser les informations et les opinions de différents interlocuteurs (chercheurs, dirigeants de start-ups, utilisateurs potentiels, gestionnaires, spécialistes de la métrologie),
- affiner nos recherches bibliographiques afin d'identifier les biocapteurs développés pour la détection des molécules d'intérêt choisies (perturbateurs endocriniens, éléments traces métalliques et le mercure en particulier, hydrocarbures, composés chlorés et phénolés, glyphosate et ses métabolites),
- participé à 2 séminaires : XXIIe Rencontre transfrontalière de capteurs et biocapteurs (Montpellier, 21-22 septembre 2017) et Atmos'Fair, pollution de l'air extérieur et intérieur, (Lyon, 10-11 octobre 2017) afin de collecter des informations et d'aller à la rencontre des personnes directement impliquées,
- analysé les éléments recueillis afin de rédiger le rapport final.

## 2. Le recueil des publications

Notre première tâche fut donc de recueillir les publications les plus pertinentes pour notre sujet à partir de trois bases documentaires : Scopus, Science direct et Thomson Reuters (Figure 4). Afin de limiter la présence d'articles concernant les biocapteurs à usage médical qui sont de loin les plus nombreux, nous avons systématiquement associés les mots clés « Biosensor(s) » & « environnement ». Nous avons complété nos recherches en associant « Bioreceptor(s) » & « environnement ».

Les bases de données Scopus et Science direct ont permis de distinguer les articles de synthèse qui ont été exploités à la fois d'un point de vue statistique pour définir les caractéristiques principales de l'état de la recherche sur les biocapteurs et comme source de données techniques.

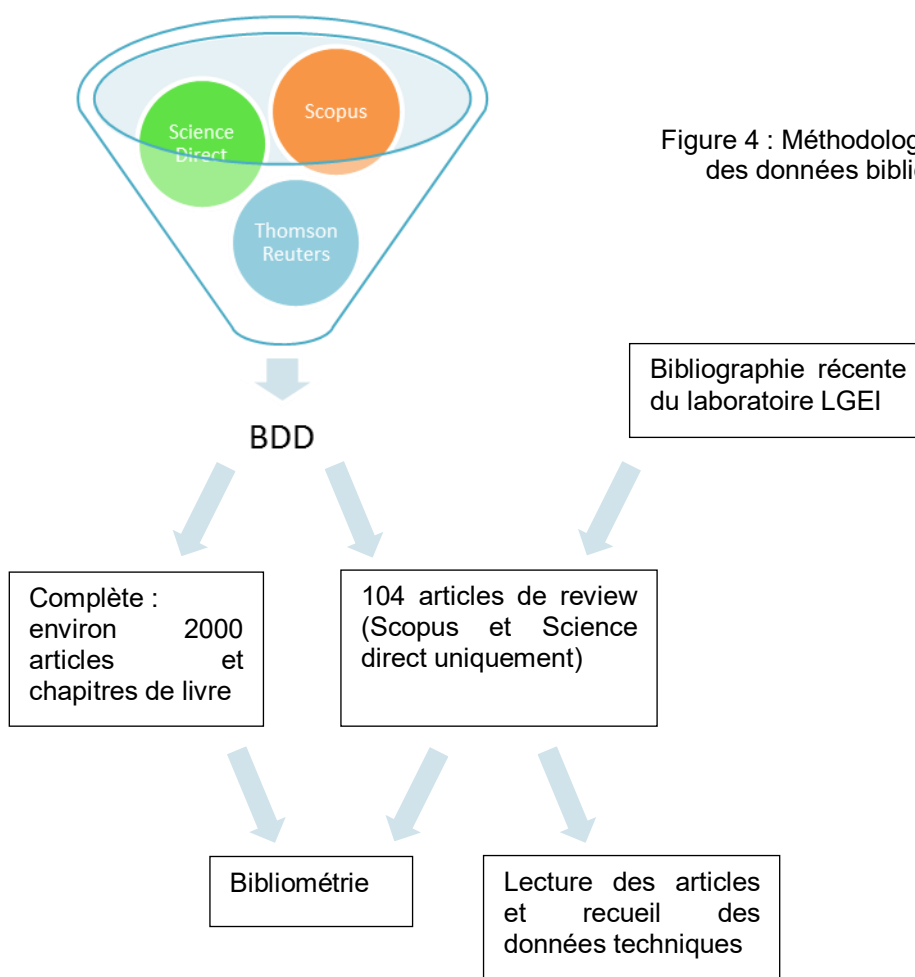


Figure 4 : Méthodologie d'analyse des données bibliographiques

### 3. Les entretiens

#### a. Concepteurs de biocapteurs

Des entretiens ont été conduits avec des chercheurs identifiés d'une part à travers leurs publications, leur implication dans des projets de recherche européens ou ANR ou parce qu'ils dirigent des sociétés concevant et/ou commercialisant des biocapteurs ou des technologies voisines. La liste de ces personnes ressource a été enrichie des contacts donnés à Julie Carimalo, chargée de mission CTV Allenvi, par Gérald THOUAND (Univ. Nantes, laboratoire GEPEA) et Jean-Louis MARTY (UPVD, laboratoire IMaGES) qui sont les experts directement impliqués dans l'étude menée par le CTV Allenvi. Enfin cette liste a été complétée par Ingrid Bazin (Les Mines d'Alès). Elle est présentée en annexe 1.

#### b. Les Sociétés d'Accélération du Transfert de Technologies (SATTs) et sociétés de transfert

Le CTV Allenvi s'est chargé de contacter la plupart des SATTs de France (Tableau 1) ainsi que certaines sociétés de transfert. La plupart des informations étant confidentielles, nous ne reviendrons pas sur ces projets en cours de maturation.

Tableau 1 : Liste des SATT et aperçu des projets déposés concernant les biocapteurs (au sens large)

SATT	Région	Projets	Polluants ciblés	Matrice visée
Lutech	Ile-de-France	1 projet de bioessais dans les domaines de l'agronomie et 2 dans celui de l'environnement	Biocides, herbicides, PE, métaux lourds	Eau de mer
			Molécules carcinogènes et PE	Eau de mer
SATT Nord	Hauts-de-France			
SATT GE	Bourgogne-Franche-Comté	2 projets dans le domaine de la santé et 2 dans le domaine de l'environnement (confidentiels)		
Pulsalys	Auvergne-Rhône-Alpes	1 projet	COV	Air intérieur collectif et industriel
		2 projets	Qualité globale, Métaux, toxines	Eau
AxLR	Occitanie	2 projets respectivement dans les domaines de l'agronomie et de l'environnement		
Grand-Centre	Auvergne-Rhône-Alpes			
Toulouse Tech Transfert	Occitanie			
Sud-Est	PACA	Forte implication sur la thématique capteur		
Conectus	Alsace			
Saclay	Ile-de-France	2 biocapteurs en cours de maturation dans le domaine de la santé		
IdF Innov	Ile-de-France			

SATT	Région	Projets	Polluants ciblés	Matrice visée
Ouest Valorisation	Bretagne			
Linksium	Alpes			
Aquitaine Science Transfert (AST)	Nouvelle Aquitaine			

### c. Les entreprises impliquées dans le suivi environnemental

Cinq sociétés implantées sur le marché du diagnostic de la qualité environnementale et /ou les analyses de micropolluants ont été contactées dans le but de savoir si elles utilisaient ou avaient connaissance de l'existence de biocapteurs :

- LECES
- Eurofins
- SGS Multilab
- NKE instrumentation
- Laboratoire Phytocontrol

Aucune ne nous a rapporté utiliser ni même connaître de biocapteurs commercialisés.

### d. Les organismes et services de l'État impliqués dans l'innovation

Des organismes de gestion impliqués dans le soutien à l'innovation et aux nouvelles technologies dans le domaine de l'environnement ont également été contactés :

- Agence Française de biodiversité (AFB), plus particulièrement les personnes participants au groupe de travail « métrologie » du Ministère (MEDDE),
- L'Environmental Technology Vérification (ETV), un organisme de validation des performances de technologie<sup>2</sup>.  
Les technologies ayant fait l'objet d'une vérification sont accessibles sur le site de l'ETV ([https://ec.europa.eu/environment/ecoap/etv/documents/165\\_en](https://ec.europa.eu/environment/ecoap/etv/documents/165_en)), classées dans l'une des trois catégories suivantes :
  - Energy Technologies
  - Materials, Waste & Resources
  - Water Treatment & Monitoring

Cependant, à ce jour, aucun biocapteur n'a été évalué par le CTV à ce jour.

- Le laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (AQUAREF) et le Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE)

**Au total, 32 entretiens ont été conduits. Lors de ces entretiens, le contexte de l'étude a été systématiquement présenté ; ensuite, une conversation libre concernant le produit ou la thématique de recherche de la personne contactée a été engagée ; enfin, nous nous sommes attachés à recueillir son opinion sur le marché et l'avenir de la technologie.**

**Les informations recueillies lors de ces entretiens ont été intégrées au présent rapport, à partir du moment où elles étaient diffusables.**

## **4. Les programmes de recherche nationaux et européens**

### a. Les projets ANR

<sup>2</sup> Me Nathalie Guigues, chef de projet Qualité des Eaux, Direction Métrologie Scientifique et Industrielle/Pôle Chimie Biologie, Laboratoire national de métrologie et d'essais (LNE), nous a précisé que la procédure proposée par l'ETV est actuellement, en Europe, une bonne alternative à la certification, pour les entreprises, car elle est plus simple et les frais qu'elle engendre peuvent être éligibles dans le cadre de financements européens et nationaux (FUI, PIA).

Parmi les 59 projets concernant les biocapteurs financés par l'ANR depuis 2005, seuls 8 concernent un usage environnemental de la technologie (Annexe 2).

#### b. Les projets financés par l'ADEME

Au cours des dernières années, de nombreux projets sur la thématique « sites et sols pollués » ont contribué au développement de nouveaux outils et méthodes destinés à améliorer les diagnostics environnementaux des sites et sols pollués. Certaines de ces méthodes sont basées sur des approches biologiques mais aucun biocapteur n'a été développé au cours de ces projets.

#### c. Les projets H2020

Les informations sur les projets Horizon 2020 sont disponibles et téléchargeables depuis le portail des données ouvertes de l'UE :

[https://data.europa.eu/euodp/fr/data/dataset?q=cordis&ext\\_boolean=all&sort=views\\_total+desc](https://data.europa.eu/euodp/fr/data/dataset?q=cordis&ext_boolean=all&sort=views_total+desc)

L'analyse des bases de données compilant les projets de R&I financés par l'Union européenne dans le cadre des *Framework Programmes for Research and Technology Development* (FP7 sur la période 2007-2013 et FP8, dit H2020, sur la période 2014-2020), a permis de recenser respectivement 209 et 79 projets impliquant le développement de biocapteurs. La répartition des domaines pour lesquels ces recherches ont été menées sont illustrées par la Figure 5.

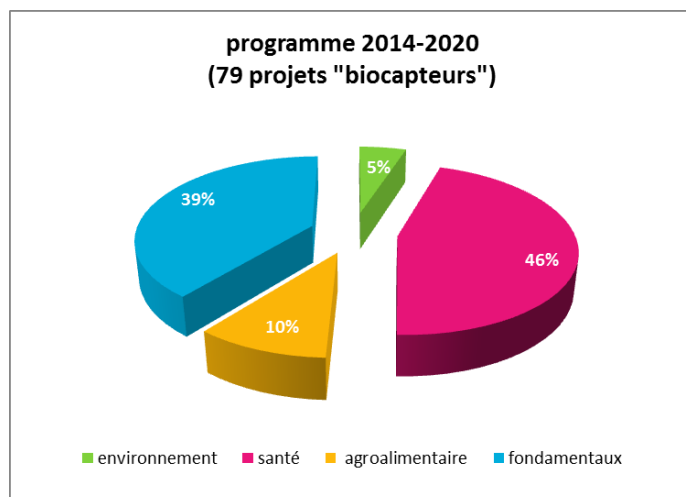


Figure 5 : Répartition des domaines d'application des biocapteurs développés au sein des projets de recherche H2020 sur la période 2014-2017

Les projets dits « fondamentaux » sont ceux pour lesquels l'objectif appliqué n'était pas clairement identifiable à la lecture du résumé.

Au total, 6 projets financés dans le cadre du programme H2020 sur la période 2014-2017, concernent les biocapteurs à usages environnementaux (annexe 3).

### **III. Ce que nous apprend la bibliométrie**

#### **1. Analyse descriptive de la bibliographie**

Les bases de données Scopus, Sciences Direct et Thomson Reuters ont été interrogées sur la base des 3 mots clés (« Biosensor\* & environnement » et « Bioreceptor\* & environnement ») sur la période 2005-2017. Cette interrogation a permis d'identifier 5 520 articles, dont 93 articles de synthèse. Plusieurs bases ayant été interrogées, il existe un grand nombre de doublons, c'est-à-dire d'articles mentionnés deux ou trois fois. Le nombre d'articles d'intérêt pour l'étude est donc plus proche de

2 000. Ce fond documentaire a été complété par des articles récents, très ciblés, fournis par Ingrid BAZIN.

Le nombre de publication par année concernant les biocapteurs appliqués l'environnement (Figure 6) augmente régulièrement depuis 2005 tout comme le nombre de publications scientifiques traitant des biocapteurs en général.

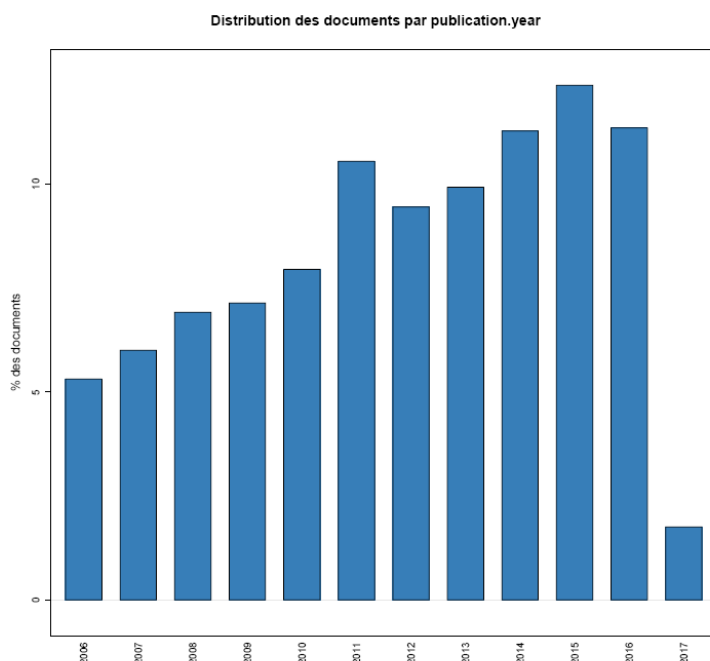


Figure 6 : Distribution des documents par années de publication

Au total 64 journaux ont publié les 93 articles de synthèse concernant les biocapteurs, biorécepteurs et l'environnement depuis 2005. Les références de ces 93 articles sont consignées en annexe 4. La plupart, sans surprise, dans les revues *Biosensors et Bioelectronics*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* et *Analytica Chimica Acta* (Figure 7)

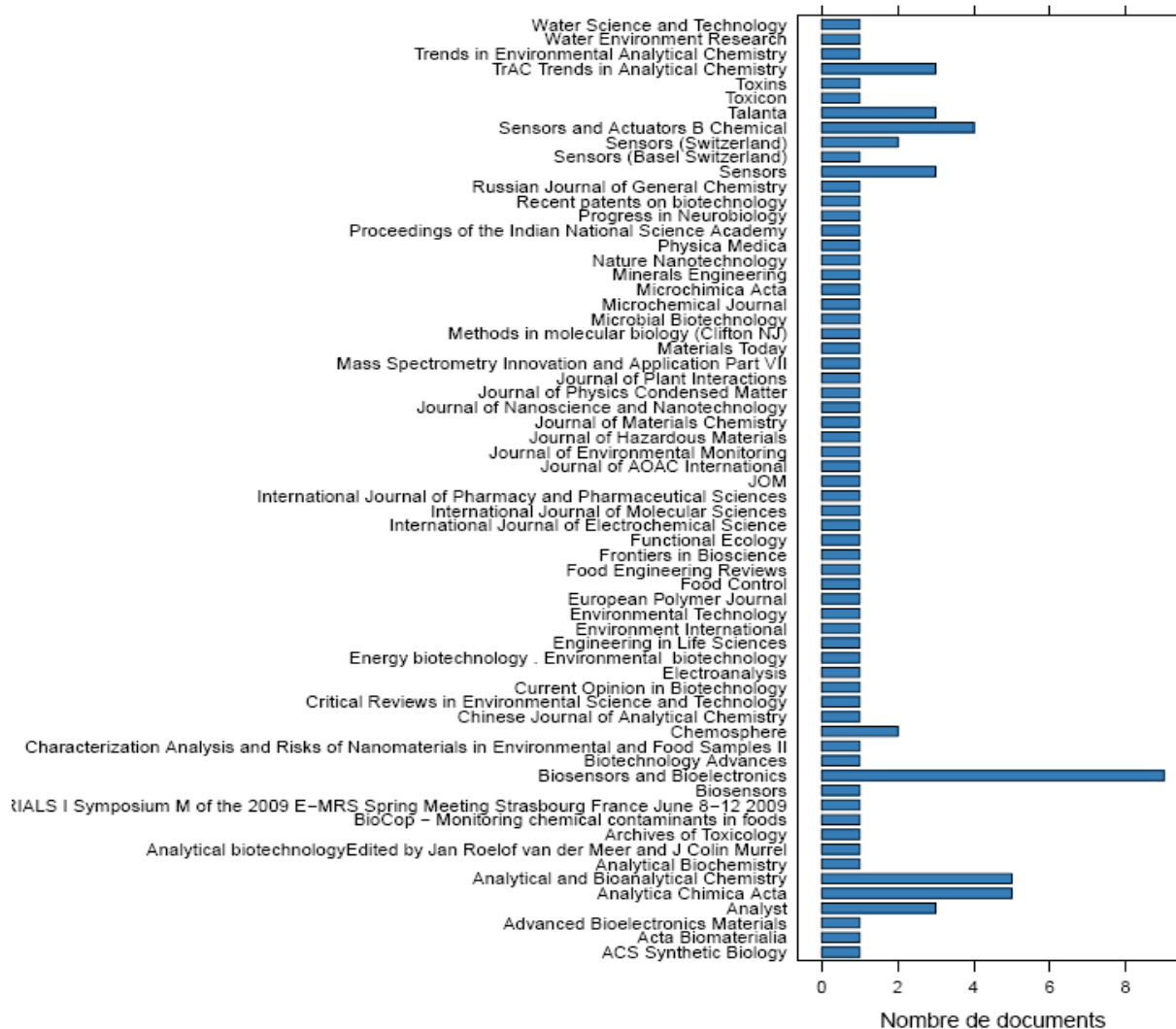


Figure 7 : Distribution des articles de synthèse par revue

## 2. Contribution des pays et organismes de recherche dans le domaine des biocapteurs

Quelle que soit la matrice considérée, les pays qui contribuent le plus aux recherches dans le domaine des biocapteurs sont la Chine, les USA et la Corée du sud. Les Figure 8 et Figure 9 illustrent la répartition des pays ayant publiés des articles sur les biocapteurs développés pour un usage respectivement dans l'air et le sol.

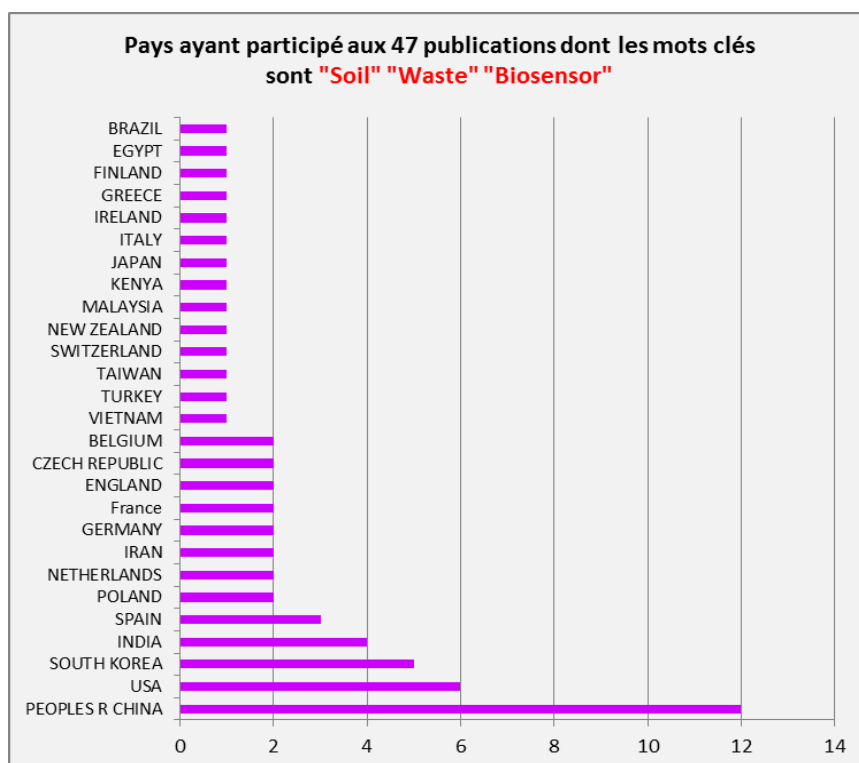
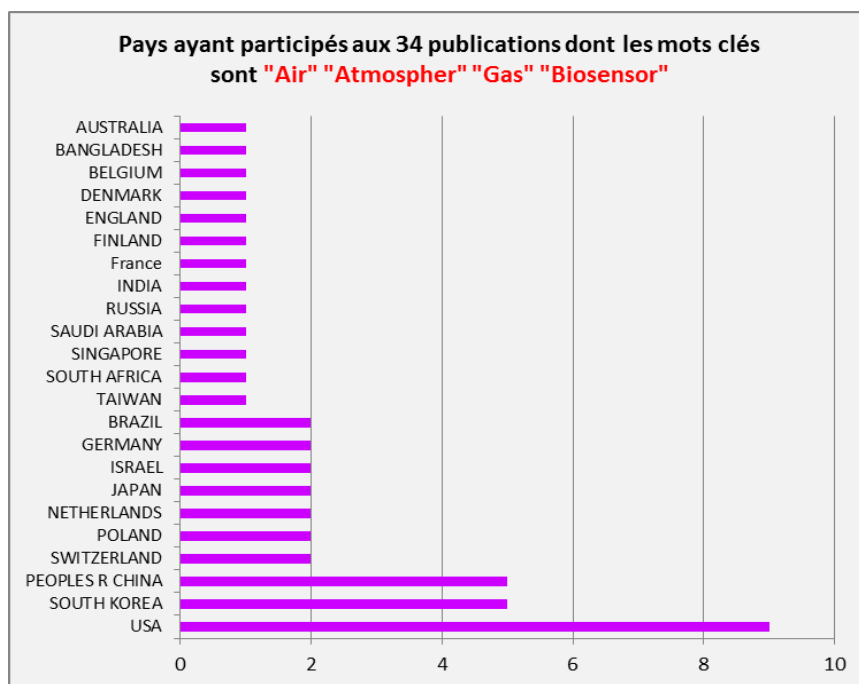


Figure 8 : Nombre de publications par pays concernant l'air et le sol, de 2005 à 2017

Le Japon se montre aussi dynamique que ces 3 pays dans le domaine des biocapteurs enzymatiques, l'Espagne dans celui des biocapteurs électrochimiques et la France pour les biocapteurs fluorescents et/ou les immunocapteurs (Figure 9 et Figure 10).

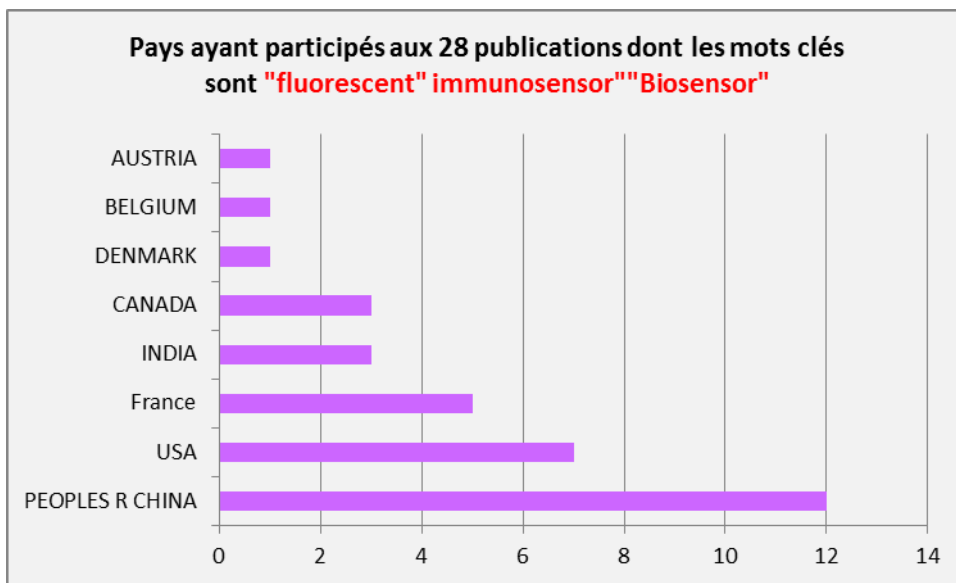


Figure 9 : Nombre de publications par pays concernant les biocapteurs fluorescents et/ou les immunocapteurs, de 2005 à 2017

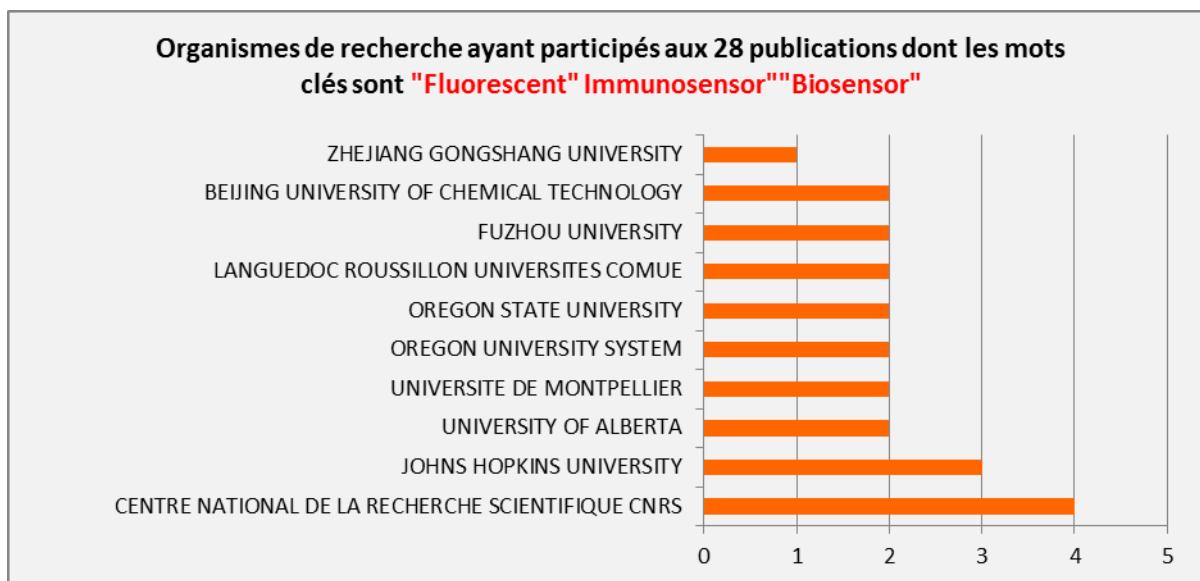


Figure 10 : Nombre de publications par organismes de recherche concernant les biocapteurs fluorescents et/ou les immunocapteurs, de 2005 à 2017

Bien que les pays impliqués ne soient pas beaucoup plus nombreux, le nombre d'équipes travaillant sur la conception de biocapteurs électrochimiques est nettement plus important (Figure 11 et Figure 12).



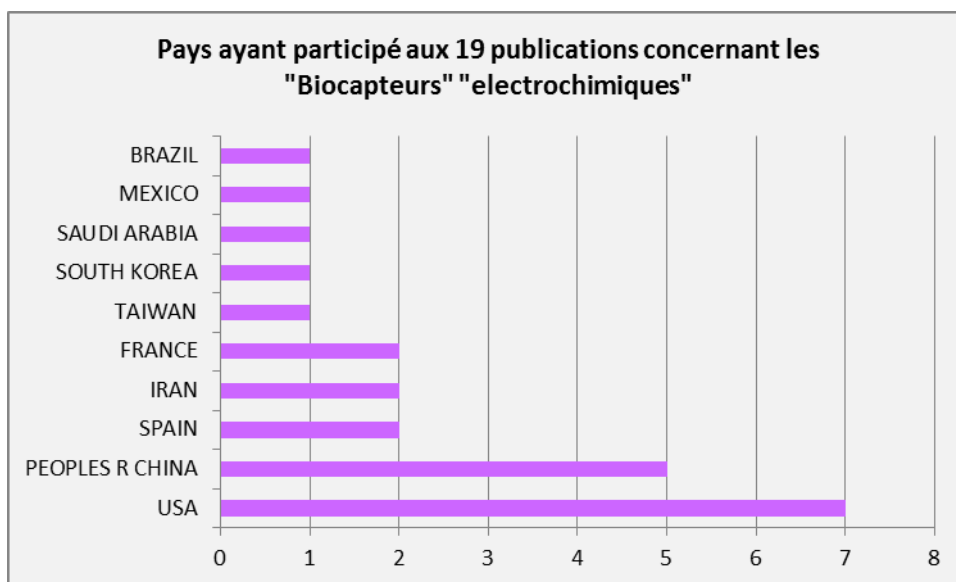


Figure 11 : Nombre de publications par pays concernant les biocapteurs électrochimiques, de 2005 à 2017



Figure 12 : Nombre de publications par organismes de recherche concernant les biocapteurs électrochimiques, de 2005 à 2017

## IV. Définition et classification des biocapteurs

### 1. Définition

La définition d'un biocapteur a été donnée par l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Il s'agit d'un appareil autonome et intégré, capable de fournir une mesure spécifique, quantitative ou semi-quantitative, d'un analyte, par le moyen d'un élément biologique de reconnaissance, directement en contact avec un élément de transduction.

Il s'agit d'un appareil autonome et intégré, capable de fournir une mesure spécifique, quantitative ou semi-quantitative, d'un analyte, par le moyen d'un élément biologique de reconnaissance, directement en contact avec un élément de transduction.

Il est composé de 3 éléments (Bazin et al. 2017) (Figure 13) :

- un élément de reconnaissance biologique (enzyme, anticorps, brin d'ADN...),
- un transducteur capable de transformer le signal détecté en une donnée lisible et quantitative ou semi-quantitative,
- un élément capable de présenter facilement et utilement cette donnée.

Un biocapteur doit, en outre,

- être réutilisable,
- fournir des résultats indépendamment des paramètres physico-chimiques (pH, T°...),
- fournir des résultats sans ajout d'autres réactifs ou sans prétraitement de l'échantillon,
- intégrer les deux composants principaux (récepteurs et transducteurs) dans un même dispositif petit et portable.

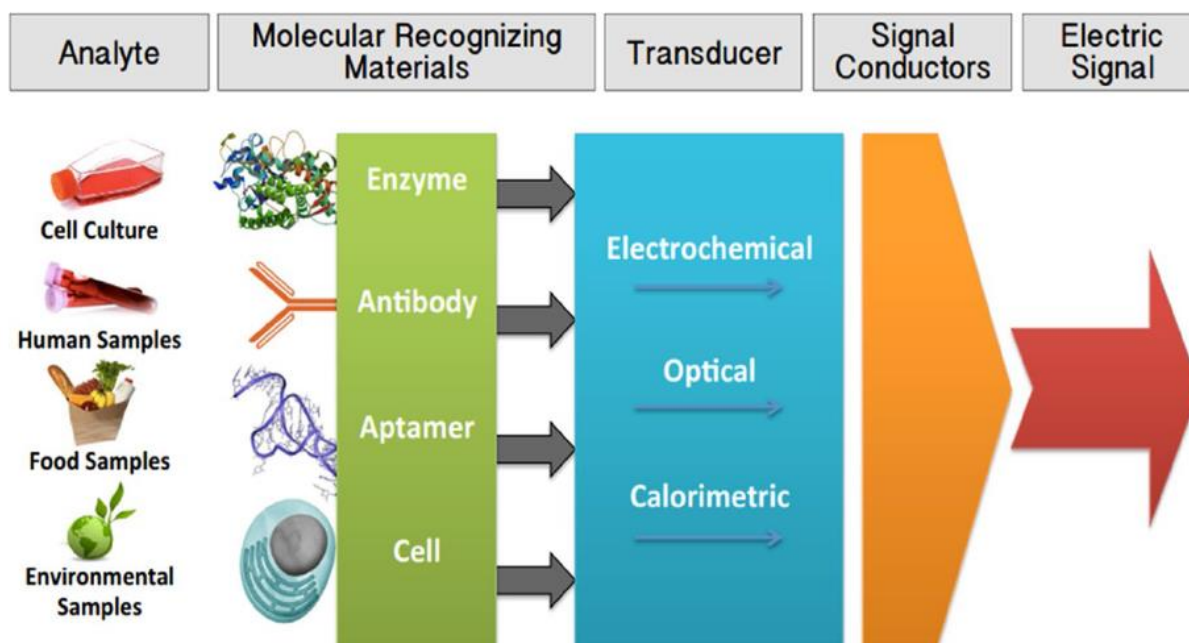


Figure 13 : Éléments constitutifs d'un biocapteur (Hassani et al. 2017)

*Remarque : Les abus de langage sont nombreux et il est fréquent de trouver dans la littérature des bioessais ou des tests à usage unique (bandelette de mesure) considérés comme des biocapteurs. Or ces technologies sont respectivement, mises en œuvre au laboratoire, et non réutilisables, ce qui est incompatible avec la définition d'un biocapteur. Il est également fréquent que le terme de biocapteur soit utilisé, alors que l'une au moins des caractéristiques fondamentales qui le définissent fasse défaut, dès lors que la technologie peut évoluer vers la conception d'un biocapteur. Ces technologies, même au stade de bioessais, offrent souvent déjà des capacités analytiques intéressantes. Enfin, il arrive parfois que le terme de « biocapteur » soit improprement associé avec une méthode permettant la détection et la quantification d'un organisme biologique.*

## 2. Classification : les différents types de biocapteurs

Les biocapteurs peuvent être classés en trois groupes en fonction de la nature de leur récepteur (Mehrotra 2016) :

- Groupe micro-organisme : Ce groupe comprend les biocapteurs microbiens ou cellulaires ou encore tissulaires (utilisant des membranes ou des organites cellulaires). Précisons que, dans ce cas, la cellule se comporte à la fois comme récepteur et transducteur (Amaro et al. 2011).
- Groupe catalytique basé sur l'emploi d'enzymes : Les plus couramment utilisées étant les oxydoréductases, les polyphénol-oxydases, les peroxydases ou les aminooxydases.
- Groupe basé sur la bioaffinité entre molécules : Anticorps/antigènes, entre acides nucléiques, entre les hormones et leur récepteur... Ce groupe comprend donc les immunocapteurs et les biocapteurs à ADN.

La nature biologique du biorécepteur implique la présence d'eau. Ceci explique la relative abondance des biocapteurs développés pour cette matrice par rapport à ceux qui concernent l'air ou les sols. La plupart des biocapteurs qui ont été développés pour une mesure dans l'air, à une exception près, fonctionnent en fait à l'interface air/eau. Quant à la matrice sol ou solides pollués, une étape d'extraction des molécules polluantes est la plupart du temps nécessaire.

On peut classer également les biocapteurs en fonction de la nature du signal émis par le récepteur et capté par le transducteur (Mehrotra 2016):

- Biocapteurs électrochimiques (ampérométrie, potentiométrie, conductométrie et impédimétrie). Un biocapteur électrochimique est un appareil dans lequel le récepteur est intégré dans ou intimement associé à une électrode (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007). C'est la raison pour laquelle ils se prêtent particulièrement bien à la miniaturisation et donc à la conception d'appareils destinés à un usage sur site (Bahadır and Sezgintürk 2015).

Deux techniques sont fréquemment utilisées :

- la voltamétrie à onde carrée (SWV pour Square Wave Voltammetry)
- la spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS pour Electrochemical impedance spectroscopy).

La sensibilité, la spécificité et la stabilité du biocapteur est fonction de la méthode d'immobilisation du biorécepteur à la surface du transducteur, en particulier du type de liaisons mises en œuvre : adsorption, encapsulation, liaison covalente, liaison ionique, polaire, hydrogène ou interaction hydrophobe (constitution d'une ou 2 couches auto-assemblées de lipides). Autant d'éléments qui introduisent une grande diversité (Hassan et al. 2016).

- Biocapteurs optiques : Le signal émis est un faisceau lumineux. Plusieurs types de biocapteurs optiques peuvent être distingués en fonction des propriétés physiques du faisceau lumineux exploitées : absorption lumineuse, fluorescence/phosphorescence, bio/chemiluminescence, réflectance, réfraction, diffusion Raman. Les techniques optiques mobilisées sont les fibres optiques, les guides d'ondes optiques, la résonance plasmonique de

surface (SPR pour Surface Plasmon Resonance) ou encore le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (FRET pour Förster ou Fluorescent Resonance Energy Transfer).

- Biocapteurs magnétiques : Ils sont capables de détecter un effet de magnétorésistance, généralement induit par la présence de micro ou nano particules.
- Biocapteurs thermiques ou calorimétriques : C'est le changement de température induit par la présence de la molécule cible qui entraîne un changement de la résistance du transducteur.
- Biocapteurs mécaniques : Ils sont capables de mesurer le changement de fréquence de résonance d'un cristal induit par son changement de masse. Ce changement de masse se produit lorsque la molécule cible se lie à la surface sensible, elle-même déposée à la surface du cristal. Ce changement de fréquence peut être mesuré par :
  - une microbalance de cristal de quartz ;
  - un appareil mesurant les ondes acoustiques de surface.

La Figure 14 illustre les différents types de biorécepteurs et de transducteurs pouvant être associés pour constituer un biocapteur.

Selon Hassan et al. (2016), la classification des biocapteurs est réalisée à la fois en fonction de la nature du transducteur et de celle du récepteur (enzyme, anticorps, cellule entière, acide nucléique). L'association entre un type de biorécepteur et un type de transducteur n'est pas aléatoire. Elle dépend de la nature du biorécepteur et de l'objectif du biocapteur (molécule(s) recherchée(s), matrice, usage). L'affinité entre les différents types de biorécepteurs et transducteurs est traitée dans le chapitre 3.

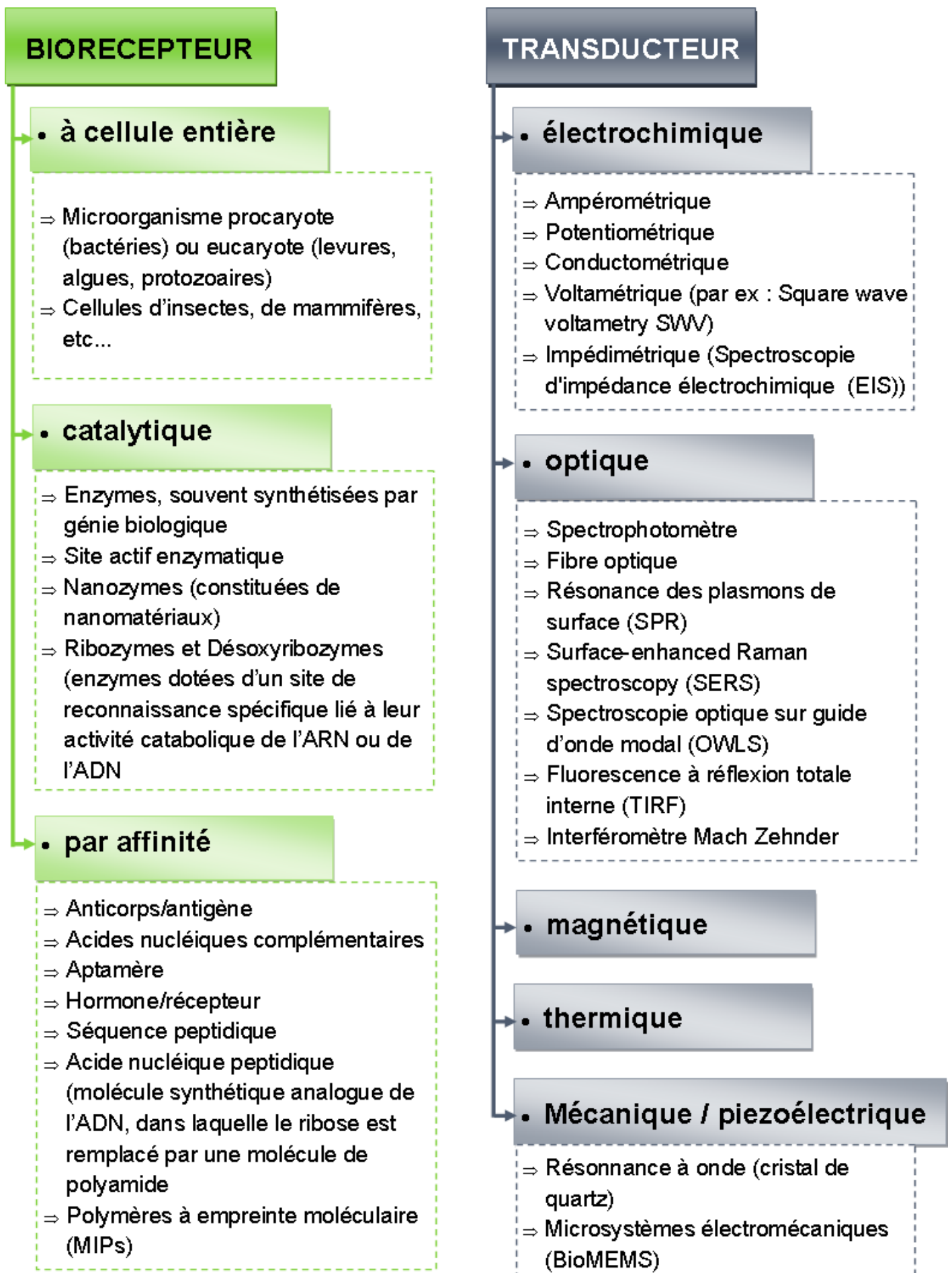


Figure 14 : Différents types de biorécepteurs et transducteurs (d'après Mehrotra 2016)

Selon Bahadır and Sezgentü (2015), les transducteurs optiques sont les plus employés dans la conception des biocapteurs pour un usage environnemental autre que la mesure de la DBO, actuellement commercialisés. (Figure 15).

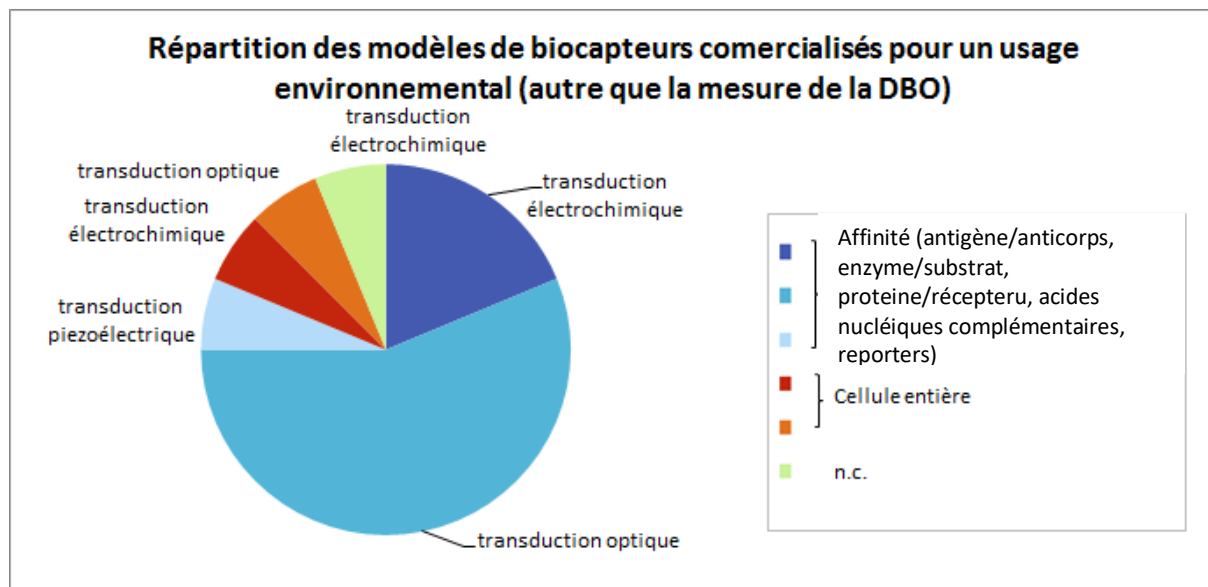


Figure 15 : Répartition des types de transducteurs parmi les biocapteurs commercialisés pour un usage environnemental autre que la mesure de la DBO

### 3. Les biocapteurs d'effets

Les biocapteurs constituent une méthode fondée sur un élément de reconnaissance biologique permettant de mesurer qualitativement ou quantitativement la présence d'un polluant dans l'environnement. Bien qu'elle présente, entre autres, certains avantages liés à sa composante biologique, cette méthode est donc plus une méthode d'évaluation et de mesure de la contamination que de ses effets sur les organismes vivants. Néanmoins il existe des **biocapteurs d'effets** qui exploitent parfaitement cette composante biologique et permettent d'identifier des molécules parfois chimiquement très différentes mais qui ont le même effet sur le biorécepteur, qu'elle que soit sa nature (cellule entière, enzyme, récepteur...). À titre d'exemple :

- certains métaux et pesticides agissent sur la photosynthèse et peuvent être détectés par les biocapteurs algaux (biocapteurs à cellules entières) ;
- les perturbateurs endocriniens (œstrogènes, composés phénolique dont le phénol, le bisphenol A, les catéchols et les crésols, certains pesticides,...) sont en général reconnus par un même récepteur membranaire (Alkasi, Ornatska, and Andreescu 2012) ;
- les pesticides organophosphorés ou de la famille des carbamates, certains métaux lourds, la nicotine ou encore certaines toxines sont inhibiteurs de la cholinestérase et peuvent donc être détectés par les biocapteurs intégrant cette enzyme (Andreescu 2009 et al.) ;
- des molécules entraînant une oxydation de la tyrosinase comme le 2,4-D, l'atrazine ou les composés phénoliques (Andreescu et al. 2009) peuvent être détectés et mesurés par des biocapteurs enzymatiques intégrant cette enzyme.
- des composés dits « dioxin-like » (dioxines, furanes, HAPs, PCBs...) sont capables de se lier au récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR – Aryl hydrocarbon receptor), également appelé récepteur de la dioxine, et d'induire une cascade d'événements toxiques allant jusqu'aux effets carcinogènes (Ait-Aissa 2009). Le récepteur AhR peut donc être détourné pour mettre en évidence et mesurer la quantité de ces molécules dans un échantillon.

Les biocapteurs d'effets sont également très utiles pour mettre en évidence des effets cocktails, si fréquents dans l'environnement (Maser and Xiong 2010).

## V. Les biocapteurs adaptés à la surveillance environnementale

### 1. Biocapteurs à cellule entière

Les biocapteurs à cellule entière ont en commun d'être très sensibles à la biodisponibilité des molécules cible ainsi qu'à leur génotoxicité qui ne se révèle parfois qu'après métabolisation intracellulaire (Amaro et al. 2011). Différents types de cellules peuvent être utilisés :

- les microorganismes procaryotes (les bactéries) ;
- les microorganismes eucaryotes (levures, algues, protozoaires) ;
- les cultures cellulaires d'organismes supérieurs.

#### a. Les biocapteurs microbiens

Les techniques électrochimiques et optiques sont les plus utilisées pour les biocapteurs microbiens (Hassan et al. 2016).

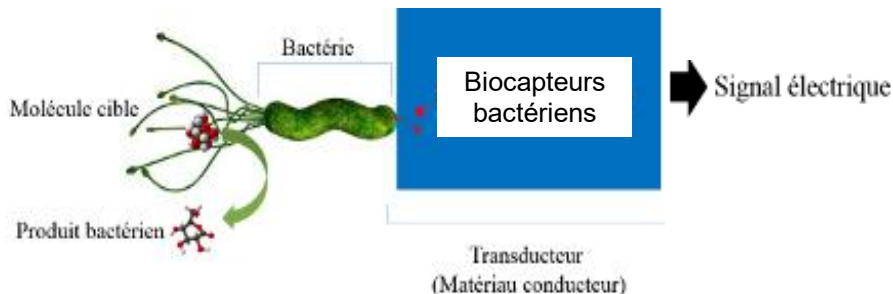


Figure 16 : Schéma d'un biocapteur microbien (Naoufel Haddour, com. pers.)

#### i. Biocapteurs microbiens à transduction électrochimique

- Les biocapteurs microbiens ampérométriques

Une réaction d'oxydoréduction du métabolite à la surface de l'électrode active génère un courant électrique entre l'électrode active et l'électrode de référence.

Cette technologie est la plus largement développée et la plus fréquemment utilisée pour la mesure de la DBO. Hassan et al. (2016) recensent cinquante-deux biocapteurs dont certains sont capables de détecter des composés comme le phénol, le benzène et leurs dérivés.

- Les biocapteurs microbiens conductimétriques (Hassan et al. 2016)

L'activité métabolique des bactéries, et en particulier la production ou la consommation d'ions, induit une modification de la conductivité de la solution.

Cette technologie ne nécessite pas d'électrode de référence ; elle est donc particulièrement adaptée à la miniaturisation et est peu coûteuse. En revanche, elle est peu spécifique, car tous les ions présents dans le milieu peuvent potentiellement influencer la mesure.

- Les biocapteurs microbiens potentiométriques

L'activité bactérienne, en particulier les réactions d'oxydoréduction de la matière organique, induit une modification de la différence de potentiel entre les deux électrodes. (Hassan et al. 2016)

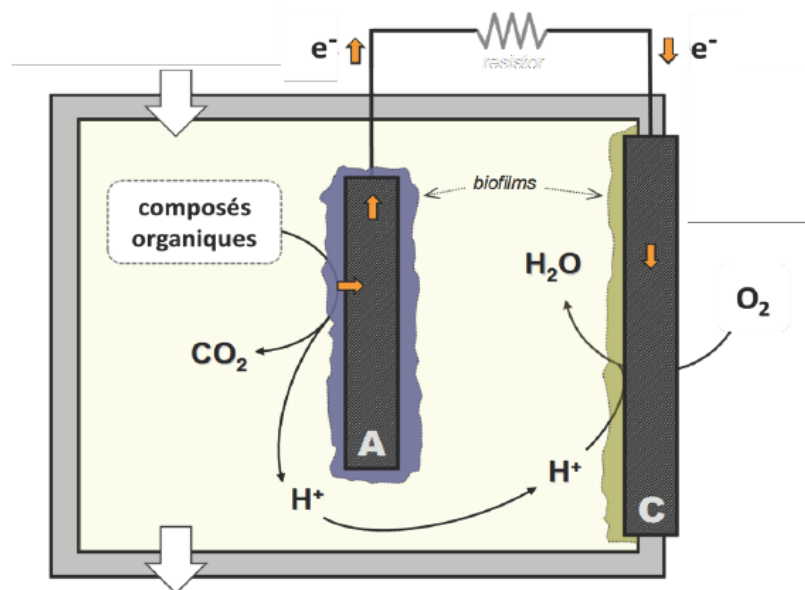
Cette technologie est employée dans un biocapteur permettant la détection rapide et sélective d'antibiotiques de la famille des Céphalosporines.

C'est aussi le principe technologique du biocapteur développé et commercialisé par la société ENOVEO (<http://enoveo.com/technologies/biocapteurs/>).



Plusieurs rencontres avec Mr Sibourg, gérant d'**ENOVEO**, ont permis de préciser quelques caractéristiques du **biocapteur NODE**, développé par la société.

Le biocapteur NODE est un **biocapteur microbien** permettant la mesure de la qualité de l'eau **en temps réel** sur les **environnements aquatiques naturels** (nappes phréatiques, sols, rivières, lacs) et **industriels** (bioprocédés, réseau urbains, stations d'épuration, surveillance de nappes phréatiques à risque). Son fonctionnement repose sur la conversion, par les bactéries **naturellement présentes dans un milieu**, de l'énergie chimique en énergie électrique. Les micro-organismes dégradent la matière organique et génèrent un signal électrique proportionnel à la quantité de substrat présent. L'appareil est autonome énergétiquement et modulable en fonction de l'usage et du milieu étudié.



### Conversion de l'énergie chimique directement en électricité par les bactéries

Ce biocapteur est capable de donner instantanément une mesure quantitative de la DBO là où les techniques de laboratoire nécessitent 5 jours (DBO<sub>5</sub>). Sa limite de détection est de l'ordre de 10 mg/L d'oxygène dissous, soit environ 10 fois supérieure à la limite de détection atteinte par les méthodes traditionnelles. Cette limite est cependant compatible avec les applications visées.

C'est aussi un système d'alerte en cas d'évolution soudaine de la charge organique (ex : pollution accidentelle) ou de la présence de tout toxique ayant un impact sur l'activité bactérienne (antibiotiques, certains pesticides, toxines...) et sur la qualité de l'eau.

Ses applications sont :

- La mesure en continue de la DBO dans le cadre de la gestion des eaux usées. À titre d'exemple des essais ont été mis en œuvre dans des réseaux urbains, déversoirs d'orage, ou en amont de stations d'épuration pour mesurer la charge organique et adapter le traitement avant le rejet vers l'exutoire naturel ;
- La surveillance des eaux souterraines : Le biocapteur est utilisé comme système d'alerte détectant dans un délai très rapide (<10 minutes) des contaminations accidentelles ou diffuses. Toutefois, il est probable que le biocapteur NODE ne puisse pas détecter une seule molécule comme un solvant chloré sauf si ce solvant est accompagné d'autres molécules et que la charge organique globale de la contamination modifie la réponse des bactéries.
- La surveillance des eaux de surface continentale.

Dans sa forme actuelle, ce biocapteur ne permet pas une application dans le domaine du contrôle qualité des eaux potabilisables.



Contrairement aux analyses en laboratoires accrédités, ce type de mesure *in situ* et en temps réel n'est pas une méthode normée validée pour la surveillance des effluents en sortie d'usine de traitement, le biocapteur est donc plutôt utilisé pour la gestion interne des procédés. Les utilisateurs sont essentiellement les collectivités locales et les industriels. Il est précisé cependant que la société ENVOE est actuellement dans une démarche de certification ETV (Environmental Technology Verification : <http://www.verification-etv.fr/>) de ce biocapteur.

Selon Mr Sibourg, il n'y a pas de technologie concurrente utilisant des bactéries naturellement présentes dans le milieu. Il existe une technologie proche développée par la société LAR, utilisée pour la surveillance d'usines de traitement des eaux usées, qui permet la mesure de l'O<sub>2</sub> dissous (DBO) en quelques minutes (<https://www.lar.com/cn/news-display/article-management/detail-view/news/fast-online-bod-measurements.html>).

Néanmoins l'appareil développé est loin d'être aussi compact et autonome. Selon le site web de la société LAR, il s'agit d'un outil d'alerte pour la détection de polluants toxiques dans les eaux potables et de surface. La méthode ne permet pas d'identifier le ou les toxiques en présence mais sera sensible aux éventuels effets cocktails.

- Les biocapteurs microbiens voltamétriques (Hassan et al. 2016)

Les électrodes mesurent le courant et la différence de potentiel induit par l'activité bactérienne.

Cette technologie offre la possibilité de mesurer plusieurs composés à l'origine de différences de potentiel variées. Une étape préliminaire de concentration permet de gagner en sensibilité mais l'appareil n'est alors théoriquement plus considéré comme un biocapteur.

#### *ii. Les piles à combustible microbiennes (PACMs)*

Le principe des piles microbiennes repose sur le fait que des micro-organismes adhérents à des surfaces conductrices sont capables de connecter leur métabolisme à ces surfaces. Ces micro-organismes peuvent ainsi oxyder une grande variété de molécules organiques, en produisant de l'énergie utile pour leur croissance et le maintien de leur métabolisme. Leur utilisation dans les piles à combustible microbiennes transforme une partie de cette énergie en électricité. On peut par conséquent utiliser comme combustible des PACMs toute sorte de matières organiques des plus simples (glucose, acétate, carbohydrates...) aux plus complexes (cellulose, mélasses...) mais aussi des déchets organiques contenus dans les eaux des stations d'épuration, des déchets agricoles (laiteries, lisiers...), des déchets domestiques et tout type de substrats fermentescibles. Les PACMs permettraient d'assurer une double fonction: produire de l'électricité tout en intensifiant les procédés de traitement des effluents par accélération de la dégradation de la matière organique. (Ketep 2012). Les piles microbiennes ne sont donc pas des biocapteurs mais découlent du même principe technologique. C'est la raison pour laquelle de nombreuses équipes de recherche s'orientent vers le développement de PACMs qui semble offrir plus de débouchés (production d'hydrogène, traitement des effluents, biorémédiation) que la conception de biocapteurs (Jaffrezic N., com. pers.). Des PACMs ont été développées pour alimenter en électricité des capteurs environnementaux placés dans des zones difficilement accessibles (eaux souterraines, sites isolés) (Ketep 2012).

#### *iii. Biocapteurs microbiens à transduction optique*

La transduction optique permet théoriquement le screening haut débit en autorisant la détection de plusieurs molécules au cours de la même analyse (Hassan et al. 2016). Les propriétés optiques les plus couramment utilisées dans la conception de biocapteurs microbiens sont l'absorption (biocapteurs colorimétriques permettant par exemple la détection de l'arsenic), la fluorescence, la phosphorescence et la bioluminescence.

La fluorescence, la phosphorescence et la bioluminescence sont trois formes de luminescence, toutes naturelles et constitutives. La luminescence est une émission de lumière froide (par opposition à l'incandescence qui est une émission de lumière chaude) par interaction entre particules électriquement chargées. Fluorescence et phosphorescence sont deux formes de luminescence qui diffèrent par la durée d'émission post excitation (plus longue pour la phosphorescence). La bioluminescence est la production et l'émission de lumière par un organisme vivant via une réaction au cours de laquelle l'énergie chimique est convertie en énergie lumineuse. Par exemple *Vibrio fischeri* renferme naturellement un gène qui code pour la luciférase, enzyme qui catalyse l'oxydation de longues chaînes d'acides gras, phénomène à l'origine de l'émission de la fluorescence bleu/vert

( $\lambda=490$  nm). Ce phénomène a pu être reproduit par génie génétique en associant le gène codant pour la luciférase à un autre gène.

Il existe aussi des bactéries bioluminescentes, capable de synthétiser la Green Fluorescent Protein (GFP). Ce gène codant pour la GFP est intégré au génome des microorganismes et associé à un gène d'intérêt. En présence de la molécule cible, deux mécanismes peuvent avoir lieu :

- un mécanisme *in vivo* : en présence de la molécule cible, le gène d'intérêt est activé et la GFP est produite ce qui génère la fluorescence des microorganismes ;
- un mécanisme *in vitro* : le métabolisme bactérien modifie le milieu ce qui entraîne la production de GFP et la fluorescence.

Selon Hassan et al. (2016) des biocapteurs basés sur cette technologie permettent la détection de Naphtalène, tributylétain, Acides organiques halogénés dans l'eau ou de métaux lourds (Ni, Co, Cu) dans les sols.

Asif et al. (2016) mentionnent l'existence d'un biocapteur fluorescent pour la détection de métaux lourds (Hg, Pb et Zn) dans l'eau. Ce biocapteur contient des bactéries *Escherichia coli* recombinantes dont le génome a intégré un gène d'alerte codant pour une GFP.

Les biocapteurs microbiens fluorescents sont généralement faciles à construire avec des technologies moléculaires simples. Ils sont stables et utilisables pour des expositions à long terme. Ils présentent également l'avantage d'être sensibles à de faibles concentrations (de l'ordre du milli-molaire). Ils sont pénalisés par un délai de réponse un peu long lié au délai entre la production de la GFP et l'apparition de la fluorescence.

#### b. Les biocapteurs à levures

Le principe technologique est illustré par la Figure 17 ci-dessous : L'exposition des levures aux métabolites déclenche une réponse biologique mesurable comme l'altération de l'ADN, l'activité d'un gène ou une réaction métabolique. Cette réponse biologique est traduite en un signal qui est amplifié et mesuré par un transducteur.

L'avantage fondamental des biocapteurs à levures par rapport aux biocapteurs microbiens est lié au fait que les levures sont des cellules eucaryotes plus proches du comportement d'un organisme pluricellulaire et pouvant accueillir des gènes de vertébrés (Jarque et al. 2016). C'est la raison pour laquelle plusieurs biocapteurs intégrant des récepteurs nucléaires spécifique de perturbateurs endocriniens ont été développés. Il convient cependant de garder à l'esprit qu'une réponse positive n'est pas directement transposable à un organisme eucaryote, du fait de la complexité des mécanismes de régulation *in vivo* ; elle permet seulement d'identifier un risque potentiel. Plus accessoirement la durée de vie et la robustesse des biocapteurs à levure est supérieure à celle des biocapteurs microbiens, ce qui peut être intéressant dans le cadre de la mesure de la DBO.

Les biocapteurs à levures sont utilisés sur diverses matrices : sols, air, eau et échantillons biologiques.

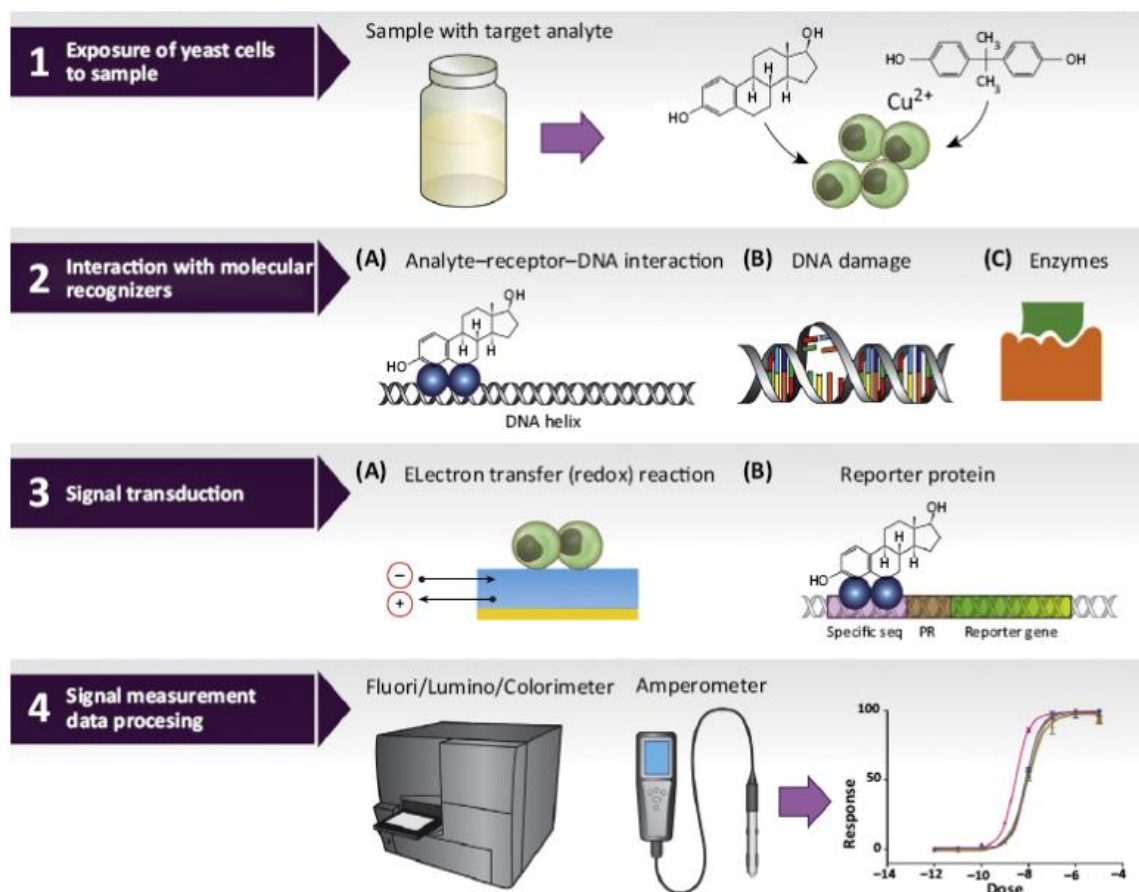


Figure 17 : Principe technologique du biocapteur à levure (d'après Jarque et al. 2016)

Les molécules cibles sont :

- des molécules ayant le même mécanisme toxique : perturbateurs endocriniens (glucocorticoïdes, rétinoïdes, molécules hormono-mimétiques...), des molécules organiques oxydables (mesure de la DBO), des molécules génotoxiques, des métaux...
- des molécules très ciblées comme le cuivre (certaines souches de levures présentent naturellement un marqueur de cuivre), le tributylétain ou le bisphénol A.

Bien que possible, la détection ciblée d'une molécule ne semble pas toujours la plus pertinente et représentative de la toxicité du milieu du fait de la fréquence des cocktails de polluants dans les échantillons naturels.

La Figure 18 ci-dessous rend compte de l'abondance des méthodes déjà développées pour la détection de polluants environnementaux (Jarque et al. 2016). Cependant ces méthodes ne sont pas encore optimisées pour une utilisation *in situ* et ne peuvent être considérées comme des biocapteurs *sensu stricto*.

Les limites de détection de ces méthodes sont de l'ordre du micromolaire pour les éléments traces métallique (ETM), le groupe des composés cytotoxiques ou génotoxiques, les molécules organiques oxydables, et de l'ordre du nanomolaire pour les perturbateurs endocriniens. Elles sont considérées comme encore assez élevée.

Les levures peuvent être employées pour la caractérisation du potentiel œstrogénique de substances (modèle YES pour yeast estrogens screen) et, dans une moindre mesure, celui des matrices environnementales. Les tests sur matrice environnementale souffrent néanmoins de leur plus faible sensibilité et de leur forte sensibilité aux composés cytotoxiques. Ces tests sur levure présentent l'avantage d'être plus facile à mettre en œuvre que les autres tests comparables effectués sur culture de cellules humaines mais ils sont moins fiables en raison de différences notables de la biologie cellulaire des levures par rapport à celle des cellules de mammifères. Néanmoins de nouvelles versions de ces tests semblent plus sensibles et permettraient un usage environnemental (Aït-Aïssa and Creusot 2014). Deux bioessais permettant de déterminer le pouvoir œstrogénique, respectivement dans l'eau et dans les eaux usées sont actuellement en cours de normalisation ISO.

Pollutant Group	Detected Compound(s)	Receptor/ Gene	Detection	LoD (Range $\mu\text{M}$ )	Ligand
Metals	Copper	CUP1	Amperometry Colorimetry Fluorescence Luminescence	0.11–500 1 0.5 0.5	Copper
	Cadmium	AtPCS1	Fluorescence	0.2	Cadmium
	Heavy metals	cAMP-PKA	Fluorescence	12–45	
Endocrine disruptors	Thyroids	TR	Luminescence Colorimetry	$3.7 \times 10^{-3}$ $0.5 \times 10^{-3}$ to 0.075	$T_3$
	Retinoids	RXR	Colorimetry Luminescence	0.01 0.06	9cRA TBT
		RXR/RAR	Colorimetry	0.01	9cRA
	Tributyltin	RXR-ER	Luminescence	0.06	TBT
	Androgens	hAR	Colorimetry	$0.2 \times 10^{-3}$	DHT
			Luminescence	$0.05 \times 10^{-3}$	T
			Luminescence Fluorescence	$0.5 \times 10^{-3}$ $3 \times 10^{-3}$	DHT DHT
	Estrogens	hER hER hER $\alpha$ hER $\beta$ hER $\alpha$	Colorimetry	$0.01 \times 10^{-3}$	E2
			Fluorescence	$0.03 \times 10^{-3}$	
			Luminescence	$0.03 \times 10^{-3}$ to	
			Luminescence Amperometry	$0.04 \times 10^{-3}$ $0.03 \times 10^{-3}$ $1 \times 10^{-3}$	
	Progestagens	PR	Fluorescence Colorimetry	$0.1 \times 10^{-3}$ to 1 1	PG
Dioxin-like	AhR	Colorimetry Fluorescence	$0.3 \times 10^{-3}$ $5 \times 10^{-3}$	TCDD $\beta$ -NF	
Glucocorticoids	GR	Fluorescence	0.5	Budesonide	
Metabolic disruptors	PPAR $\gamma$ PPAR $\gamma$ antagonism	Amperometry Colorimetry	0.01 0.1	Gl262570 Rosiglitazone	
Bisphenol A	BPA-R	Luminescence	0.11	BPA	
Serotonin	HTR1A	Fluorescence	10	5-HT	
Genotoxins	NA	<i>RAD54</i>	Fluorescence	50–90	MMS
		<i>RNR2</i>	Fluorescence	3–50	
		<i>RNR3</i>	Fluorescence	10	
		<i>PLM2</i>	Fluorescence	50	
		<i>DIN7</i>	Fluorescence	50	
		<i>HUG1P</i>	Fluorescence	3–45	
Cytotoxins	Inhibitors of respiratory system	Cell respiratory system	Amperometry	0.8–1.2	KCN
	ROS inducers	<i>SOD1</i>	Fluorescence	0.1	Menadione
	General cytotoxins	NA	Luminescence	NA	NA
Biodegradable organics	NA	NA	Amperometry	39–206	BOD

<sup>a</sup>Abbreviations: 5-HT, 5-hydroxytryptamine (serotonin); 9cRA, 9-*cis*-retinoic acid;  $\beta$ -NF,  $\beta$ -naphthoflavone hydrocarbon receptor; AtPCS1, phytochelatin synthase from *Arabidopsis thaliana*; BOD, biochemical oxygen demand; BPA, bisphenol A, BPA-R, bisphenol A receptor; DHT, dihydrotestosterone; E2, estradiol; ER, estrogen receptor; hAR, human androgen receptor; hER, human estrogen receptor; HTR1A, 5-hydroxytryptamine receptor 1A; KCN, potassium cyanide; LoD, limit of detection; MMS, methylmethane sulfonate; NA, not available; progesterone; PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor; PR, progesterone receptor;  $T_3$ , triiodo-L-thyronine; RAR, retinoid A receptor; RXR, retinoid X receptor; ROS, reactive oxygen species; TBT, tributyltin; TCDD, 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin.

Figure 18 : Bioessais intégrant des levures pour la détection de polluants environnementaux (Jarque et al. 2016)

### C. Les biocapteurs algaux

Les enzymes (phosphatases alcalines, estérases, catalases) de surface de la cellule algale ont une activité perturbée en présence de polluant, mesurable par un transducteur optique (mesure de la fluorescence chlorophyllienne qui est affectée en général augmentée lorsque la cellule est perturbée). Le développement de biocapteurs implique l'immobilisation des cellules algales, ce qui peut impacter énormément la sensibilité de la méthode. À titre d'exemple, des techniques d'encapsulation dans des billes d'alginate ou dans une matrice de silice semblent être des techniques prometteuses (Durrieu 2014)

De tels biocapteurs sont des outils d'alarme (information qualitative) car ils permettent la détection *in situ*, en continu et en temps réel, de la présence de cocktails de polluants (HAP, pesticides, ETM). Ils peuvent être particulièrement pertinents pour la surveillance et le monitoring de milieux aquatiques vulnérables, d'exutoires de réservoirs d'orage ou de sites d'infiltrations d'eaux urbaines (Gosset, Ferro, and Durrieu (2015).

Les biocapteurs algaux présentent plusieurs avantages par rapport aux autres types de biocapteurs à cellule entière :

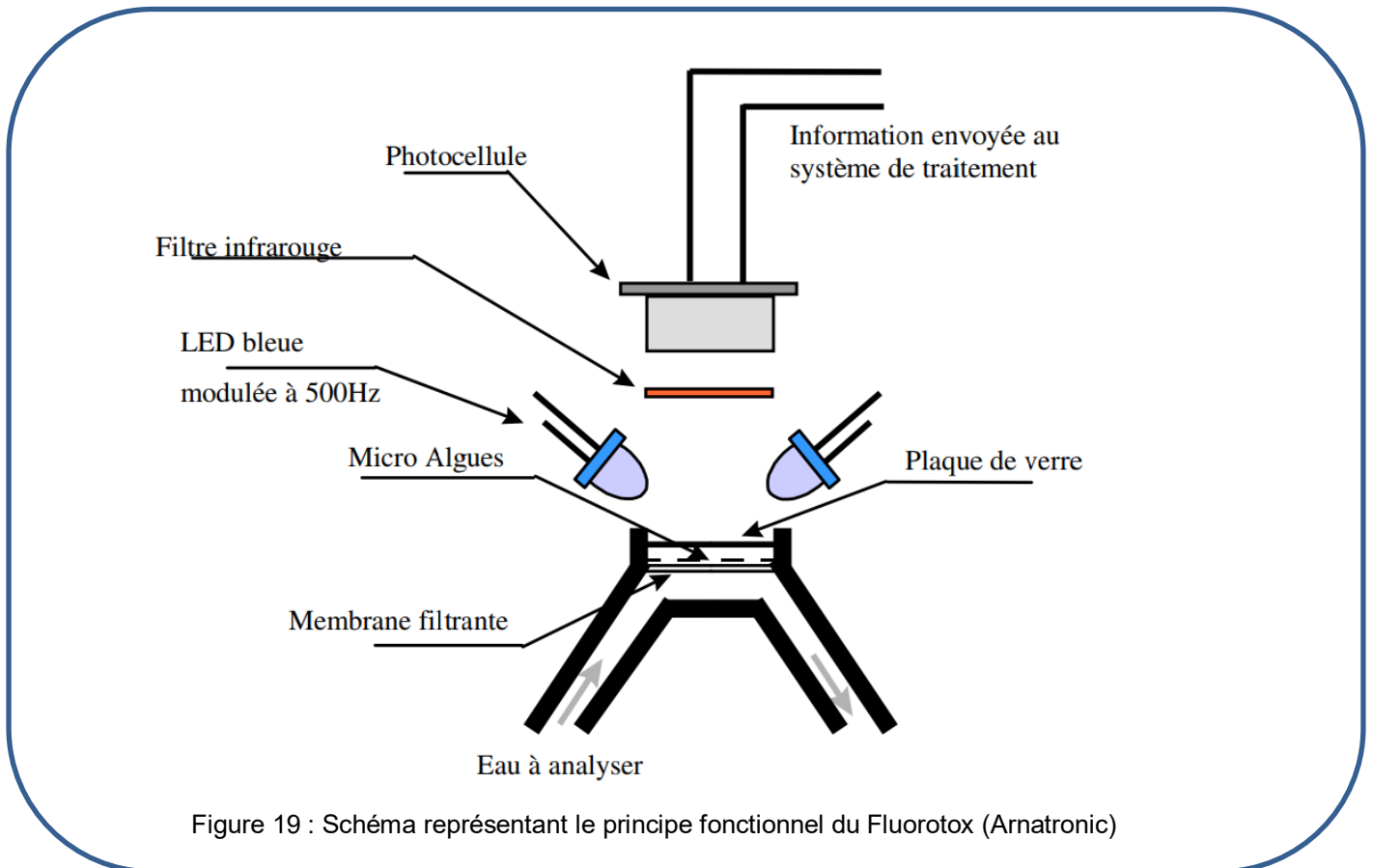
- les cellules algales, naturellement fluorescentes, ne nécessitent pas de modification génétique et sont donc plus résistantes, adaptées aux conditions de terrain et utilisables *in situ*, contrairement aux organismes génétiquement modifiés dont l'usage sur le terrain est réglementé (Claude Durrieu, com. pers.) ;
- les algues constituent le premier maillon de la chaîne trophique et sont donc de bonnes indicatrices des perturbations potentielles de tout l'écosystème.

Les principaux inconvénients sont :

- leur sensibilité relativement faible,
- leur spécificité qui peut être diminuée par la présence de nutriments qui peut biaiser les résultats,
- la nécessité d'une lumière spécifique pour la mise en œuvre de cette technologie.

Le biocapteur FLUOTOX, développé par la société IFETURA-eu (ARNATRONIC) et commercialisé par le bureau d'étude ASPECT Service Environnement, est un biocapteur algal permettant de détecter rapidement, à de très faibles teneurs (de l'ordre du µg/l) et de manière continue de certains herbicides (atrazine, diuron,...). L'appareil réalise l'excitation des algues microscopiques chlorophylliennes et fait le relevé de leur fluorescence. Il éclaire à l'aide d'une lumière bleue, modulée à 500Hz, des algues telles que les *Scenedesmus Subspicatus*. Ces algues immobilisées sur une membrane filtrante placée dans le courant d'eau à tester émettent de la fluorescence. Le signal de fluorescence recueilli par une phot cellule associée à un filtre infrarouge est envoyé au système électronique (Figure 19).

L'appareil se présente sous la forme d'un boîtier relativement volumineux destiné à être installé *in situ* dans les usines de potabilisation de l'eau. Une brochure de présentation est proposée en annexe 5.



#### d. Les biocapteurs intégrant d'autres compartiments biologiques

Un bioessai, basé sur l'utilisation d'une souche génétiquement modifiée de *Tetrahymena thermophila*, un protozoaire cilié a été développé (Amaro et al. 2011). Le génome de ce protozoaire intègre un gène codant pour la luciférase associé à un gène codant pour une métallothionéine. Cette technique s'avère être une méthode plus sensible que les autres biocapteurs cellulaires eucaryotiques et procaryotiques ; elle a fait l'objet de 2 brevets (P200901622 and P200901621 du Spanish Office of Patents, Ministerio de Industria, Turismo y Comercio).

## 2. Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant des propriétés catalytiques

De nombreux polluants comme le parathion, les nitrates ou le formaldéhyde peuvent être détectés par des enzymes catalytiques (sulfite parathion hydrolase, nitrate réductase, formaldéhyde déshydrogénase). C'est l'induction ou l'inhibition de l'activité de ces enzymes (dans le cas des pesticides ou des métaux toxiques) qui est mesurée. Le signal transmis est, le plus souvent, de nature électrochimique (biocapteurs potentiométriques ou ampérométriques) ou optique (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007).

Liu, Zheng, and Li (2013) ont compilé de nombreux exemples de développement de biocapteurs électrochimiques destinés à la détection et la quantification de diverses molécules de pesticides. Les quarante-et-un biocapteurs cités associent majoritairement des biorécepteurs enzymatiques à un transducteur électrochimique. Deux d'entre eux seulement sont basés respectivement sur un anticorps et un polymère à empreinte moléculaire (cf tableau en annexe 6).

Cependant, ces biocapteurs enzymatiques se révèlent peu stables et particulièrement sensibles aux variations de pH ou de température ou encore à la présence de certaines molécules inhibant l'activité enzymatique, rendant les conditions d'utilisation limitantes. C'est ce qui a motivé le développement d'enzymes recombinantes et d'enzymes ayant un site enzymatique modifié. Plus récemment, ont été développés des enzymes artificielles, constituées de nanomatériaux, dont la principale caractéristique est d'offrir un ratio surface/volume plus important. Ces enzymes voient ainsi leurs propriétés catalytiques (sensibilité) et de reconnaissance (spécificité) nettement majorées. Leurs nombreuses



autres vertus (faible coût, facilité de production, stabilité) sont, néanmoins, plutôt exploitées pour la détection des toxines dans le domaine médical (Mehrotra 2016) ou de toxines cyanobactériennes (cyanotoxines) en milieu marin (Bazin et al. 2017).

Les techniques d'immobilisation des enzymes à la surface du transducteur influent également beaucoup sur la spécificité, la sensibilité, la stabilité des biocapteurs, ainsi que sur leur coût.

### 3. Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant une affinité vis-à-vis de la molécule cible

De nombreux mécanismes biologiques reposent sur la complémentarité et l'affinité entre molécules. Ce sont ces propriétés qui peuvent être détournées pour concevoir des biorécepteurs et secondairement des biocapteurs. Plusieurs travaux de recherche sont actuellement conduits, exploitant la diversité des molécules impliquées dans ces mécanismes biologiques.

#### a. Affinité de type anticorps/antigène

- Les anticorps sont fréquemment utilisés pour la détection de mycotoxines (deoxynivalenol (DON), aflatoxines...) et de certaines cyanotoxines mais ils présentent souvent plusieurs limites comme leur faible stabilité ou encore leur tendance à l'agrégation et la rétention en fonction de la température. Les travaux conduits ces deux dernières décades ont donc logiquement abouti à la mise au point d'anticorps recombinants, constitués uniquement de la portion variable de l'anticorps impliquée dans la reconnaissance de l'antigène. De plus ces anticorps recombinants sont obtenus par action enzymatique ou de phages. Leur production est rapide et ne nécessite donc pas d'expérimentation animale (production *in vitro*). Leurs capacités de combinaison avec la cible sont sensiblement améliorées. Ils sont employés pour la détection des toxines fongiques, bactériennes ou de tétrodotoxine (Bazin et al. 2017). À l'avenir, ces technologies impliquant les anticorps recombinants seront mobilisées dans la création de biorécepteurs de nouvelle génération capables de détecter des toxines présentes dans des milieux variés comme les aliments (mycotoxines), l'eau de mer (phycotoxines) ou l'environnement (Bazin et al. 2017).
- D'autres procédés basés sur l'affinité anticorps/antigène ont été récemment développés :
  - la multimérisation des complexes chaînes lourdes + légères d'acides aminés formant le site variable de l'anticorps qui permet d'augmenter la sensibilité des immunoessais ;
  - la constitution de complexes formés d'anticorps recombinant (complexes chaînes lourdes + légères d'acides aminés formant le site variable de l'anticorps), d'ARN messager et de ribosomes, utilisés pour la détection d'antigènes (Figure 20).

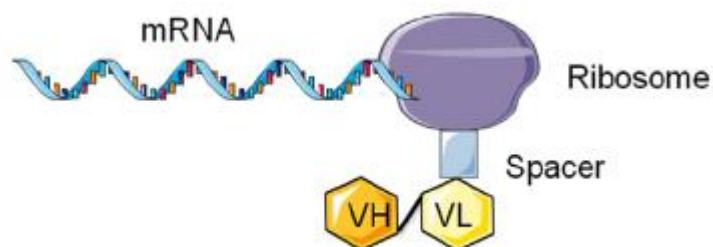


Figure 20 : Complexe anticorps recombinant - ARNm - ribosome (d'après Bazin et al. 2017)

- Des anticorps à lourde chaîne ont été isolés chez des Camélidés. Ils sont caractérisés par un domaine variable particulier et appelé nanocorps (nanobodies). Ils sont robustes et stables. Des fragments de nanocorps (quelques paires d'acides aminés et le domaine variable) ont pu être utilisés pour la confection de biocapteurs pour la détection de toxines dans le domaine de l'environnement et de la sécurité alimentaire

(mycotoxines). Des nanocorps recombinants peuvent être créés, dotés de capacités majorées de détection de petites molécules comme les toxines (Bazin et al. 2017). Ces nanobodies peuvent également être intégrés dans des immunocapteurs électrochimiques destinés à la détection d'ETM ou de petites molécules comme les pesticides ou les médicaments (C. Nanteuil, Klearia, com. pers.)

- Les essais immunochromatographiques ne sont pas des biocapteurs au sens strict du terme car ils nécessitent l'addition de réactifs. Ils se présentent sous la forme d'une bandelette réactive simple d'utilisation. Cette technologie est peu coûteuse et permet d'obtenir un résultat en peu de temps car les étapes préliminaires d'incubation et de préparation de l'échantillon ne sont pas nécessaires. Ces immunoessais permettent, en outre, une lecture du résultat à l'œil nu, les rendant adaptés à un usage médical, environnemental ou pour la surveillance des aliments. De nombreux tests de diagnostic rapide à usage médical ont été développés et commercialisés sur ce principe technologique. Dans le domaine de l'environnement, les immunoessais développés sont plus rares (Tableau 2) (Liu, Zheng, and Li 2013).

Tableau 2 : Exemples de tests immunographique sur bandelette développés (d'après Liu, Zheng, and Li 2013)

Méthode	Nature de l'élément de reconnaissance	Molécule cible	Matrice	Limite de détection/temps d'analyse
Immuno-chromatographie sur bandelette	Anticorps conjugué à une protéine marquée avec des nanoparticules d'or	Atrazine	Eau	1 ppb/5 min
Immuno-chromatographie sur bandelette	Anticorps conjugué à des particules de carbone	Thiabendazole	Eau Liquides alimentaires	0.25 ppb (usage semiquantitatif)/10 min 0.11-4.13 ppb (gamme de détection quantitative)
Disque digital versatile	Anticorps	4 pesticides + 1 antibiotique	Eau	0.06 ppb (atrazine), 0.25 ppb (chlorpyrifos), 0.37 ppb (metolachlor), 0.16 ppb (sulfathiazole), 0.1 ppb (tetracycline)
Biocapteur immuno-chromatographique fluorescent	Anticorps	3,5,6-trichloropyridinol	Eau	1ppb/15 min (gamme d'application de 1 à 50 ppb)
Bandelette colorimétrique	Enzyme (AChE)	Organophosphorés, carbamates, toxines	Eau	Usage semiquantitatif 27.5 ppb (paraoxon), 0.31 ppb (aflatoxine B1)/5 min
Bandelette intégrant tous les réactifs	Enzyme	Pesticides	Liquides alimentaires	nMolaire



## b. Affinité de type acide nucléique/brin complémentaire

- Les aptamers sont des acides nucléiques (ADN ou ARN) synthétiques, présentant de fortes capacités de liaison avec différents types d'analytes (Bazin et al. 2017). Leur production a lieu *in vitro* et ne nécessite pas le recours à la culture cellulaire, à la différence de la production d'anticorps classiques, ce qui autorise la production d'aptamers contre des molécules hautement toxiques ou faiblement immunogènes. Ce procédé de production est par ailleurs plus facile et moins coûteux et rend actuellement possible la production d'aptamers ciblés contre des ions, des acides aminés, des peptides, des protéines, des virus et des cellules entières comme des bactéries. Des aptacapteurs, couplant aptamers et différents types de transducteurs (optique ou électrochimique) ont été développés pour la détection de toxines bactériennes, de cyanotoxines et de mycotoxines. Bazin et al. (2017) en ont recensé quinze (Figure 21). Récemment de nouvelles technologies ont été développées pour permettre de détecter plusieurs mycotoxines en même temps.

Aptamers for mycotoxins and toxins.

Aptamer type	Target toxin	Technique involved in biosensor	Reference
DNA	OTA	Impedimetric Electrochemiluminescence	Cruz-Aguado and Penner, 2008, Rivas et al., 2015; Yang et al., 2015b, 2015a
	Aflatoxin M1	Electrochemical	Malhotra et al., 2014; Nguyen et al., 2013
	Fumonisin B1	Colorimetric and Chemiluminescence	McKeague et al., 2010; Hosseini et al., 2015
	Zearalenone	indirect competition enzyme-linked oligonucleotide assay (ELONA)	Chen et al., 2013; Wang et al., 2015b
	Microcystine LR	Colorimetric, voltammetric, electrochemical	Lin et al., 2013; Li et al., 2016; Eissa et al., 2014;
	Okadaic Acid	Voltammetric, direct competitive enzyme-linked aptamer assay (ELAA). ELISA	Eissa et al., 2013; Gu et al., 2016
	Saxitoxin	Electrochemical, fluorescence resonance energy transfer (FRET)	Zheng et al., 2015; Handy et al., 2013
	Enterotoxin	Electrochemical Electrochemical, impedance	Bruno and Kiel, 2002; Deng et al., 2014; Wu et al., 2013
	Toxin A	Electrochemical	Luo et al., 2014
	Endotoxin	Electrochemical, quantum dots (QD) fluorescence detection	Ding et al., 2009; Bai et al., 2014; Su et al., 2013, 2012 Eissa et al., 2015
RNA	Brevetoxins (BTXs)		Tok and Fischer, 2008, Wei and Ho, 2009; Wei et al., 2011; Fetter et al., 2015; Bogomolova and Aldissi, 2015
	Botulinum neurotoxin		
	Shiga Toxins	-	Challa et al., 2014
	Botulinum neurotoxin.	surface plasmon resonance	Chang et al., 2010 ; Janardhanan et al., 2013 ;
	microcystin-LR	-	Hu et al., 2012

Figure 21 : Caractéristiques principales (type d'aptamer, molécule cible et type de transducteur) des quinze aptacapteurs recensés par Bazin et al. (2017)

- Les acides nucléiques peptidiques (PNA pour Peptides Nucleic Acids) sont des molécules analogues synthétiques de l'ADN dans lesquelles l'architecture de ribose est remplacée par une architecture de polyamide. Ces PNA sont capables de s'hybrider avec l'ADN et l'ARN et peuvent ainsi mettre en évidence la présence d'espèces cible. Cette technologie a été utilisée pour développer des microessais où des biocapteurs capables de mesurer la production de toxines bactériennes (*Escherichia coli*) ou d'*Alexandrium* sp. (Dinoflagellé) (Bazin et al. 2017).
- Les ribozymes et les deoxyribozymes sont des enzymes ayant une activité catabolique respectivement de l'ARN et de l'ADN. Elles ont la particularité d'être dotées d'un site de reconnaissance spécifique d'une molécule cible, distinct mais lié à leur activité catabolique. Ainsi la présence de la molécule cible régule la catalyse de la molécule d'ARN ou d'ADN. Cette propriété est exploitée pour la conception de biorécepteurs pour la détection de métabolites, antibiotiques, toxines comme le ricin dans le domaine médical et agroalimentaire. Dans le domaine de l'environnement, cette technologie est employée pour la détection de petites molécules organiques et est également pertinente pour la détection des métaux qui ont la propriété de favoriser l'activité catalytique des deoxyribozymes (Saidur, Aziz, and Basirun 2017) (Figure 22). Ces biorécepteurs sont souvent associés à des transducteurs fluorescents, colorimétriques ou électrochimiques (Bazin et al. 2017; Saidur, Aziz, and Basirun 2017).

Electrode material	Analyte HM	Signal amplification technique	Electrochemical technique	Electrochemical Redox indicator	LOD	Linear range	Reference
Gold	Pb <sup>2+</sup>		DPV	MB	300 nM	0.5–10 μm	Xiao et al. (2007)
Gold			DPV	Fc	0.25 nM	0.5 nM–5 μm	Zhang et al. (2016)
Gold		AuNPs based bio barcode	DPV	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>	1 nM	5 nM–0.1 μm	Shen et al. (2008)
Gold		AuNPs based amplification	CC	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>	0.028 nM	0.1 nM–0.035 μm	Yang et al. (2010b)
Magnetic Beads		RCA amplification	SWSV	MB	7.8 pM	0.01 nM–1.0 μm	Tang et al. (2013)
Gold	Cu <sup>2+</sup>		SWV	Fc	20 nM	20 nM–600 μm	Li et al. (2010)
AuNPs/Gold			SWV	Fc	0.1 pM	0.1 nM–10 μm	Chen et al. (2011)
GNCs			EIS	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-/3-</sup>	0.0725 nM	0.1 nM–400 nM	Hu et al. (2016)
Gold	UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	HCR signal amplification	SWV	MB	20 pM	0.05 nM–4 nM	Yun et al. (2016)

Figure 22 : Biocapteurs basés sur la séparation de molécules d'ADN par action catalytiques des desoxyribozymes (d'après Saidur, Aziz, and Basirun 2017)

- L'affinité des métaux lourds et leur capacité à se lier à certaines bases nucléiques, formant des paires de bases stables (complexes Thymine-Hg<sup>2+</sup>- Thymine ou Cytosine-Ag<sup>+</sup>-Cytosine) ou modifiant la conformation des séquences d'ADN, sont à l'origine de la conception de plusieurs biocapteurs à ADN intégrant différentes techniques de transduction (Saidur, Aziz, and Basirun 2017) (Figure 23).

Strategy	Analyte HM	Electrode material	Electrochemical technique	Electrochemical indicator	Limit of detection (LOD)	Linear range	References
Simple approach	Hg <sup>2+</sup>	Gold	DPV		60 pM	0.2–1 nM	Wu et al. (2010b)
		RGO/GCE	CV, EIS, DPV	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>	5 nM	8 nM–0.1 μm	Zhang et al. (2013)
		SPGE	CV	Fc	0.6 nM	10–0.001 μm	Niu et al. (2011)
	Gold coated glass electrode	CV, EIS	GO	1 nM	1–300 nM	Park et al. (2012)	
	Ag <sup>+</sup>	CPE and AuNPs/ CPE	DPV	Ethyl green (EG)	0.104 nM/ 0.0264 nM	0.3–1 nM and 0.09–1 nM	Ebrahimi et al. (2015)
		Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @3D-GO/ gold	CV, EIS		2.0 pM	0.01–100 nM	Yang et al. (2015)
Probe structural switch signal-on	Hg <sup>2+</sup>	Gold	EIS	[Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-/4-</sup>	100 pM	1 nM–1 mM	Cao et al. (2009)
		PGE	DPV	Fc	0.1 μm	0.1–2 μm	Han et al. (2009)
		Gold	SWV	Fc	2.5 nM	5 nM–1 μm	Zhuang et al. (2013)
			Gold and SPGE	SWV	MB	0.1 nM	0.2–100 nM / 0.2–50 nM
		Gold	DPV	MB and Fc	0.08 nM	0.5–5000 nM	Xiong et al. (2015)
	Ag <sup>+</sup>	MHA/Gold	DPV		1.3 nM	10–500 nM	Yan et al. (2012)
		NPG/GCE	SWV	AQDS	0.048 nM	0.1 nM–1 μm	Zhou et al. (2015)
Probe structural switch signal-off	Hg <sup>2+</sup>	PGE	DPV, CV, EIS	Fc	0.5 nM	1 nM–2.0 μm	Liu et al. (2009c)
		PGE	CV, DPV, EIS	Fc	0.06 nM	0.1 nM–5 μm	Wu et al. (2010a)
		Multi metallic (Au-Ag) planar electrode	CC	RuHex	1 nM	6–1066 nM	Chen et al. (2012)
Amplification based	Hg <sup>2+</sup>	Gold	CV	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>	10 nM	10 nM–10 μm	Miao et al. (2009)
		Gold	SWV	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>	0.5 nM	1 nM–0.1 μm	Zhu et al. (2009b)
		Gold ITO coated glass chip	DPV, DPV	[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> , MB	7.38 pM, 0.2 nM	0.05–2.5 nM, 0.5 nM–20 μm	Tang et al. (2012), Xuan et al. (2013)
		Ag <sup>+</sup>	Gold	DPV	MB	0.03 nM	0.1–120 nM

SPGE= Screen-printed gold electrode; PGE= Polycrystalline gold electrode. ITO= Indium tin oxide

Figure 23: Biocapteurs basés sur la formation de complexes stables entre base nucléique et ion métallique (d'après Saidur, Aziz, and Basirun 2017)

- Les biopuces à ADN permettent généralement d'étudier le transcriptome par l'observation simultanée de l'expression de plusieurs milliers de gènes dans une cellule ou un tissu donné, mesurant ainsi les modifications des différents états cellulaires. Concrètement, une puce à ADN est un support rigide (verre ou nylon) de quelques centimètres carrés, sur lequel de courtes séquences d'ADN ont été déposées. Ces courtes séquences sont nommées des "sondes" correspondant à des oligonucléotides de synthèse ou à des produits de PCR. Les sondes ont la particularité d'avoir été choisies de manière à être spécifique d'un seul et unique gène. Ce microdispositif est mis au contact des ARNs extraits des échantillons à analyser appelés des "cibles". Ces cibles sont marquées par incorporation de radioéléments ou de fluorochromes. Après acquisition des images d'hybridation, la quantification des signaux d'hybridation reflète le niveau d'expression de chacun des gènes représentés sur la puce (d'après le site <http://www.imm.cnrs.fr/transcriptome/spip.php?rubrique11>).

Les gènes se comportent donc comme des biomarqueurs potentiels de contamination (Hook et al. 2006). A la fin des années 2000, Poynton et al. ont développé une puce à ADN sur la daphnie exposée à des métaux (Poynton, Loguinov, et al. 2008; Poynton et al. 2007; Poynton, Zuzow, et al. 2008). Ces travaux ont ainsi permis d'associer un métal comme le cuivre ou le cadmium à une signature transcriptomique spécifique. En outre, des études ont montré que les niveaux de transcription d'un gène étaient souvent fonction de la concentration de la molécule étudiée (Owen et al. 2008). Le changement du niveau de transcription d'un gène est considéré comme une réponse adaptative possible de l'organisme exposé (Gentry et al. 2010). L'établissement d'un profil transcriptomique en tant que « signature » d'un contaminant au travers de la réponse d'un individu a pour but de mieux connaître les voies métaboliques affectées et mieux évaluer ainsi la toxicité d'un polluant sur l'organisme.

Une puce ADN a été mise au point par le laboratoire de l'UMR CNRS 5805 EPOC de l'Université de Bordeaux 1. Elle permet de caractériser le profil d'exposition de l'anguille d'Europe (*Anguilla anguilla*) à divers polluants.

Mille gènes d'intérêt ont été préalablement identifiés chez l'anguille d'Europe (*Anguilla anguilla*) grâce à la caractérisation du transcriptome hépatique global d'animaux prélevés dans des sites plus ou moins contaminés (8 métaux et 25 polluants organiques ont été mesurés sur ces sites), en France et au Canada (Baillon et al. 2015, 2016). Ces gènes ont été inclus dans des puces à ADN. Une méthode non-invasive a ensuite été mise au point pour caractériser le profil d'exposition des animaux. A partir d'un échantillon de nageoire, l'ARN est extrait et amplifié. Ces séquences d'ARN sont ensuite rétrotranscrites et les séquences d'ADN complémentaire (ADNc) ainsi synthétisées sont marquées par un fluorochrome. Les puces sont enfin hybridées avec les échantillons d'ADNc issus des animaux à tester. Après incubation, elles sont lues par un scanner à très haute définition (Innoscan 710, Innopsys, France). La sur ou sous-expression des gènes chez les anguilles testées est comparée à l'expression des gènes chez des animaux de référence, issus de sites préservés, ce qui permet d'établir un profil d'expression corrélé à l'exposition des animaux.

Cette technologie peut évoluer vers la conception d'un biocapteur, notamment en associant des éléments de microfluidique, un transducteur miniaturisé permettant l'acquisition des images d'hybridation et un logiciel assurant l'analyse des images et la production des données. Les travaux réalisés au sein du laboratoire IPBS – UPS/CNRS UMR 5089 de l'université de Toulouse en sont un bon exemple (Figure 24).

**Récepteur basé sur la technique de Tethered Particle Motion** (Brevet n° FR 1057031 déposé le 3 Septembre 2010, "Biopuces pour l'analyse de la dynamique de molécules d'acide nucléique" ; extension PCT/FR2011/052004 accordée en avril 2015 ; instruction pour une extension aux USA en cours)

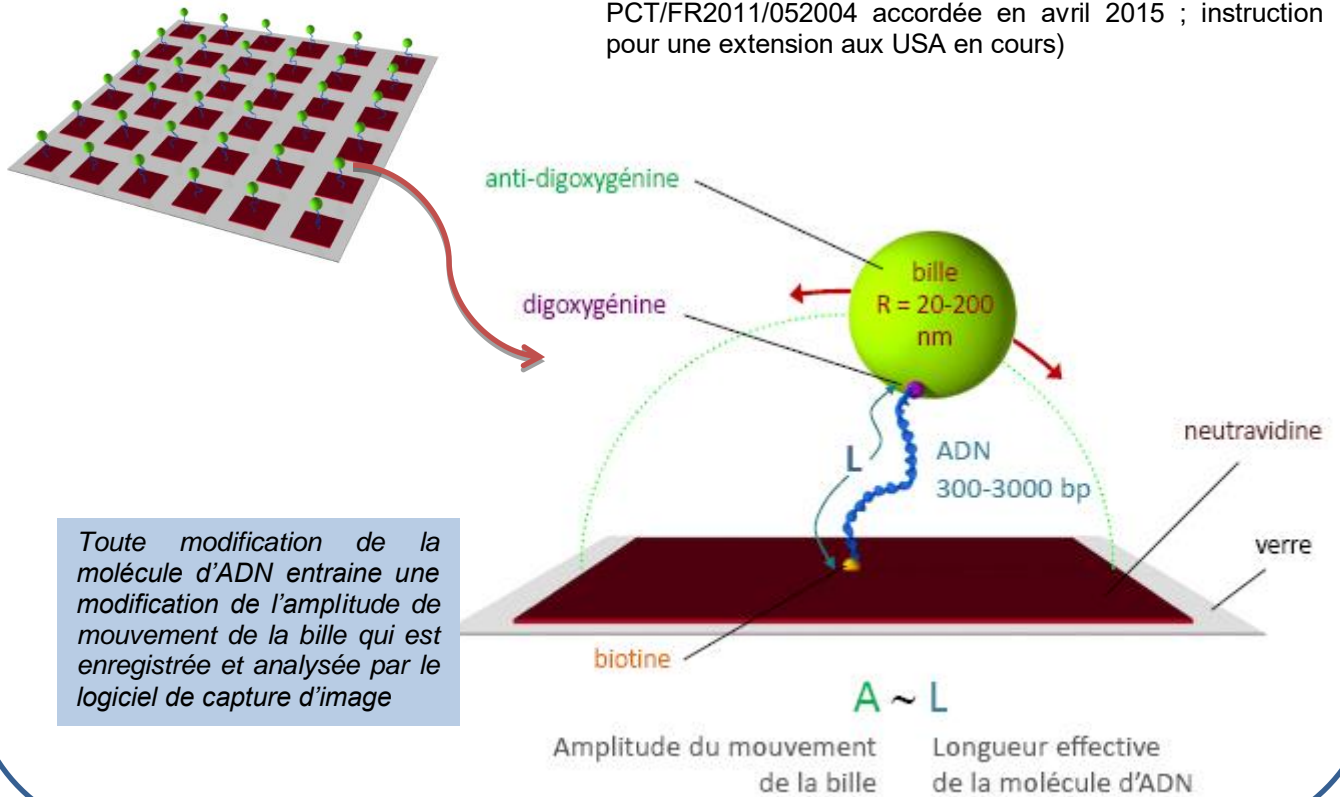


Figure 24 : Principe technologique d'une puce à ADN développée par l'IPBS (Université de Toulouse)

### C. Affinité liée à la configuration spatiale des molécules

- Des séquences peptides ayant une affinité pour des molécules cibles peuvent être chimiquement synthétisées et peuvent donc concerner des molécules très toxiques ou faiblement immunogènes du fait de leur petite taille, comme les toxines, le glyphosate ou son métabolite l'AMPA. De plus, elles peuvent aussi présenter des propriétés fluorescentes ou des marqueurs d'affinité les rendant aptes à la conception de biorécepteurs. Leur faible poids moléculaire les rend particulièrement stables. La production de ces séquences peptidiques est réalisée grâce à des virus bactériophages (méthode « phage display ») qui permettent de sélectionner très efficacement et d'amplifier des séquences peptidiques spécifiques de la molécule cible, dites « peptides affines » (Bazin et al. 2017). (Figure 25).

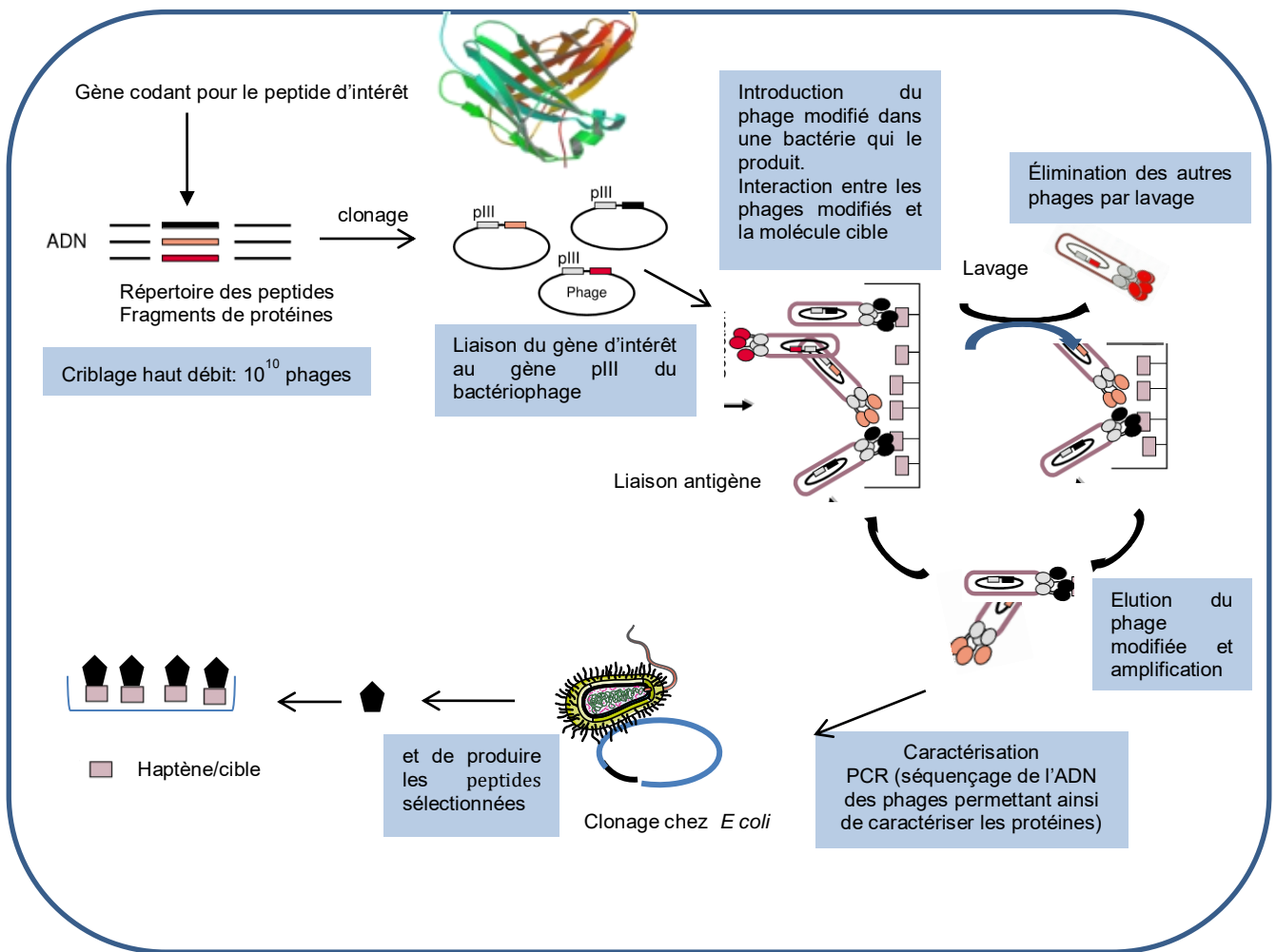


Figure 25 : Schéma illustrant la sélection et la synthèse de peptides affines par la méthode Phage Display (Bazin)

- Les protéines « scaffold », sont des protéines connues pour leur capacité à se lier à d'autres molécules et pour leur rôle de transducteur de l'information au sein de la cellule. C'est pourquoi, parmi les 50 molécules « scaffold » décrites par la littérature, quelques-unes ont déjà été testées pour le développement de biocapteurs (Bazin et al. 2017).
- Les polymères à empreinte moléculaire (Molecularly Imprinted Polymers ou MIPs) constituent une technologie évolutive qui offre des possibilités adaptées à l'amélioration des performances des biocapteurs. Elle a également d'autres applications :
  - son intégration à des échantillonneurs passifs permet la rétention de molécules très polaires et hydrophiles comme le Glyphosate, ce qu'aucun des échantillonneurs passifs actuellement commercialisés ne peut faire (Puzio et al., 2014) ;
  - utilisée en amont des techniques classiques comme l'HPLC, elle permet d'extraire et de préconcentrer le composé à analyser (Bazin et al. 2017).

Les biocapteurs intégrant les MIPs sont faciles à produire, peu coûteux et stables. Néanmoins, ils sont considérés comme moins spécifiques que les immunocapteurs. Ils sont souvent associés à des transducteurs piézoélectriques.

Cette technologie est particulièrement adaptée à la détection de petites molécules organiques (masse inférieure à 2000 daltons) comme les toxines ou certains pesticides. Elle a également permis le développement d'un biocapteur permettant la détection de l'œstradiol à travers un programme cofinancé par l'Union Européenne (Human Resources Development Operational Programme, project no. POSDRU/159/1.5/S/136893) (Anca et al. 2015).



Ce programme conduit entre 2007 et 2013 par l'Institut des sciences analytiques (UMR 5280 CNRS, ECBL & ENS) de l'Université de Lyon et l'Université de Médecine et Pharmacie de Roumanie a permis de créer un polymère par l'électropolymérisation de nanoparticules d'or fonctionnalisées grâce au p-aminothiophénol en présence d'œstradiol. L'œstradiol est ensuite extrait laissant des cavités dans lesquelles les molécules d'œstradiol de l'échantillon à analyser viennent se loger et restent fixées (

Figure 26).

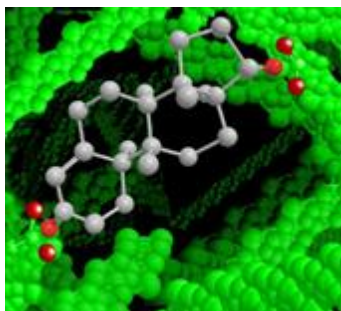


Figure 26 : Cavité spécifique de la molécule cible au sein du polymère

Ce programme permettait initialement de détecter l'œstradiol ou des molécules anticancéreuses dans des échantillons biologiques mais des tests réalisés à partir d'eau du Rhône ont été concluants pour l'œstradiol. Cette technologie est très sensible : la limite de détection est de 1.09 femto-molaire et le domaine de validité de la méthode entre 3.6 fM and 3.6 nM ; La limite de détection semble être plus proche de 3.6 nM sur des échantillons d'eau de rivière. La méthode est également spécifique, reproductible et les biocapteurs, conçus sur ce principe technologique, seraient faciles et peu coûteux à fabriquer.

Les polymères à empreinte moléculaire holographiques sont aussi des technologies prometteuses (Fuchs et al. 2013) : Leur structure et donc leurs propriétés optiques changent dès fixation de l'analyte sur le polymère, ce qui conduit à une lecture directe des résultats.

## 4. Les autres technologies associées aux biocapteurs

### a. Les nanoparticules et nanomatériaux

Les nanoparticules et nanomatériaux sont des éléments dont la taille est égale ou inférieure à 100 nm et dont la surface est proportionnellement très grande. Ils se présentent sous la forme de particules, fils, tiges ou tubes et ont des propriétés mécaniques, électriques, optiques, catalytiques, magnétiques ou encore photoniques particulières (Andreescu et al. 2009). Les nanotechnologies ont accéléré significativement le développement des biocapteurs en proposant de nouvelles approches pour l'immobilisation des biomolécules, en améliorant leur biocompatibilité, et aussi en amplifiant les signaux générés par la bio-reconnaissance. Une des principales applications de ces nouvelles technologies est le diagnostic médical. En effet, grâce aux nanotechnologies, la sensibilité et la sélectivité des dispositifs sont augmentées, l'intégration de la microfluidique est devenue possible et les performances analytiques en termes de répétabilité et fiabilité sont améliorées. Enfin, la miniaturisation facilite la conception d'appareils portables et peu onéreux ce qui offre également de nouvelles perspectives dans le domaine des biocapteurs à usage environnemental (Andreescu et al. 2009).

De manière générale, l'optimisation des biocapteurs passe en partie par l'amélioration des méthodes d'immobilisation du biomatériau à la surface du transducteur. Or les nanomatériaux possèdent la plupart des propriétés permettant une immobilisation optimale des enzymes à la surface du transducteur et tous les tests effectués ont montré qu'ils amélioreraient en effet la sensibilité et la spécificité des biocapteurs enzymatiques auxquels ils étaient intégrés. Ceci a été confirmé également

pour les autres types de biorécepteurs (anticorps, aptamères, ADN, ADNzyme) (Andreescu et al. 2009).

Les propriétés électriques de certains nanomatériaux, en particulier les nanoparticules semi-conductrices d'oxydes métalliques, changent en présence de certaines molécules. Ce phénomène a été exploité pour la détection ou la séparation de molécules gazeuses (Andreescu et al. 2009). Par exemple :

- la résistance électrique du dioxyde d'étain ( $\text{SnO}_2$ ) augmente en présence de protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ),
- l'oxyde de zinc ( $\text{ZnO}$ ) est capable de détecter le monoxyde de carbone ( $\text{CO}$ ) ou l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ),
- le dioxyde de zirconium ( $\text{ZrO}_2$ ) présente une affinité particulière pour les organophosphorés, il a été employé pour absorber sélectivement cette famille de pesticides et permettre leur quantification par une méthode électrochimique (SWV).

Ainsi les nanomatériaux sont particulièrement intéressants à intégrer dans la conception de biocapteurs quel que soit le domaine d'application. Toutefois, leurs effets sur la santé des écosystèmes et la santé humaine sont encore largement méconnus et méritent d'être explorés (Andreescu et al. 2009).

### b. La microfluidique

La microfluidique est la science qui traite des écoulements de liquides dans des canaux de taille micrométrique. C'est également une technologie qui permet la fabrication de dispositifs microfluidiques, notamment les puces microfluidiques. Ces puces sont constituées d'un ensemble de micro-canaux gravés ou moulés dans un matériau (verre, silicium ou polymère), ce qui leur confère des propriétés inédites, comme des caractéristiques optiques spécifiques, des compatibilités biologiques ou chimiques, la possibilité de créer des prototypes plus rapidement, de diminuer les coûts de production, la recherche d'applications précises comme la détection électrochimique, etc...

Les progrès réalisés et à venir concernant la microfluidique offrent nécessairement de nouvelles perspectives pour la conception de biocapteurs.

### c. L'électronique organique

L'utilisation de l'électronique organique (<http://www.universcience.tv/video-electronique-souple-7855.html>), des polymères bio-sourcés ou de l'impression 3D (Philippe Namour, com. pers.) permettent de baisser le coût du biocapteur et de diminuer son empreinte écologique, des qualités fortement recherchées par les concepteurs.

## **VI. Avantages et inconvénients des biocapteurs**

Les avantages et inconvénients des biocapteurs doivent pouvoir être appréciés au regard des limites des technologies existantes : méthodes analytiques traditionnelles et méthodes écotoxicologiques ou de bioindication (décrites plus loin).

Les méthodes analytiques traditionnelles sont sensibles et fiables pour la détection et la quantification de centaines de molécules mais elles présentent néanmoins plusieurs inconvénients (Liu, Zheng, and Li 2013) :

- elles sont chronophages et coûteuses,
- elles sont donc mises en œuvre ponctuellement,
- elles impliquent le transport des échantillons jusqu'au laboratoire ce qui entraîne un délai supplémentaire et peut biaiser les résultats,
- elles nécessitent souvent la mise en œuvre d'étapes préliminaires de concentration et préparation des échantillons ;
- elles nécessitent l'emploi de matériels coûteux et sophistiqués ainsi que la présence de main d'œuvre qualifiée,
- elles ne permettent pas d'apprécier les impacts sur les organismes et les écosystèmes,

- elles ne rendent pas compte des effets cocktail et de la biodisponibilité des polluants dans le milieu.

D'autre part, les limites des méthodes écotoxicologiques ou de bioindication sont les suivantes :

- elles sont aussi relativement chronophages et coûteuses,
- elles nécessitent l'utilisation d'un laboratoire,
- elles ne permettent ni une évaluation en temps réel, ni à grande échelle, ce qui n'en fait pas des outils d'alerte pertinents,
- elles sont rarement adaptées aux micropolluants (en ce qui concerne la bioindication),
- elles sont parfois difficiles à interpréter.

## 1. Rappel sur les méthodes analytiques traditionnelles (d'après Hassan et al. 2016)

### a. Chromatographie gazeuse

Cette technique permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un *gaz porteur* (ou *gaz vecteur*). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules. À la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel qui est appelé détecteur. Cet élément évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux.

### b. Chromatographie liquide haute performance (high performance liquid chromatography ou HPLC)

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire, la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus, via un détecteur à UV (les protéines absorbent à 275-280 nm) relié à un système d'intégration et de calcul, sont plus étroits. Donc, la résolution est améliorée : les pics sont bien séparés, on peut donc bien les différencier. Le seuil de détection est également plus bas : des pics étroits et hauts sont plus faciles à isoler du bruit de fond que des pics larges et bas. La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance ».

### c. Spectrométrie de masse

Cette méthode, destructive, permet à la fois d'accéder à la mesure de la masse moléculaire d'une substance, ainsi que d'obtenir des données structurales. La substance ionisée se trouve dans un état excité qui provoque sa fragmentation. L'analyse de ces fragments informe sur la structure de la molécule. Chacun des ions formés est caractérisé par son rapport masse/charge ( $m/Z$ ) et l'appareil est capable de séparer ces ions, grâce à un champ magnétique, et de les détecter/caractériser qualitativement et quantitativement.

Les appareils peuvent être utilisés soit avec un système d'introduction directe (analyse de substances pures), soit couplés avec un système de chromatographie pour les mélanges complexes. La spectrométrie de masse est utilisable quel que soit l'état physique de l'échantillon (gaz, liquide ou solide). Des limites de détection inférieures au nanogramme et même au picogramme sont souvent



atteintes. Il existe différents type de spectromètre de masse selon le mode d'ionisation et le type d'analyseur employé.

#### d. Spectroscopie de fluorescence (UV ou rayons X)

Il s'agit d'une méthode optique qui repose sur le principe suivant : l'illumination d'une molécule par une radiation de longueur d'onde appropriée conduit à l'absorption de l'énergie lumineuse par la molécule qui passe ainsi à un état électroniquement excité. Comme cet état est instable, la molécule retourne rapidement à son état fondamental, en restituant l'énergie en excès. Si cette dernière est émise sous forme de lumière et dans un temps très bref (généralement entre  $10^{-10}$  et  $10^{-8}$  s), le phénomène est appelé « fluorescence ». Pratiquement, dans un spectrofluorimètre, le faisceau incident est une radiation dont on sélectionne la longueur d'onde à l'aide d'un monochromateur et que l'on envoie sur un échantillon. La lumière émise par l'échantillon est recueillie dans une direction perpendiculaire et analysée à l'aide d'un second monochromateur et d'un détecteur approprié. Sa fréquence est déplacée vers le rouge par rapport à la lumière excitatrice. Le spectre d'émission dépend de la nature de la molécule fluorescente et des interactions mises en jeu entre cette molécule et son voisinage.

#### e. Spectrométrie d'absorption atomique (Atomic Absorption Spectrometry ou AAS)

L'AAS est une technique de spectroscopie atomique servant à déterminer la concentration de certains métaux dans un échantillon. L'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental.

## **2. Les méthodes écotoxicologiques et de bioindication**

En complément des méthodes liées à la chimie analytique et dans le but de mieux évaluer les risques des substances, des produits, des installations et des procédés sur la santé humaine et les écosystèmes, des **approches biologiques ont été développées**.

#### a. Les méthodes écologiques basées sur la mesure des effets sur les populations *in situ* (bioindication)

Ces méthodes d'évaluation de la qualité écologique d'un milieu sont fondées sur les exigences écologiques d'une ou plusieurs communautés végétales ou animales dont les caractéristiques (occurrence, abondance, biomasse, caractéristiques ou « traits » biologiques) sont observées et évaluées afin de fournir une indication sur le niveau de dégradation du milieu.

Elles fournissent une indication sur le niveau de dégradation du milieu. Elles nécessitent l'inventaire (à un rang taxonomique variable) des taxons de la communauté et la mesure d'une ou plusieurs caractéristiques (si l'indice est dit multimétrique). Ces données sont traduites en une note indicelle qui rend compte de la qualité écologique globale.

Les bioindicateurs sont plus ou moins pertinents en fonction de la matrice étudiée, de la nature des pollutions que l'on cherche à caractériser et de la durée pendant laquelle on cherche à évaluer les impacts. Les macroinvertébrés benthiques sont sensibles à la pollution organique et aux modifications hydromorphologiques des cours d'eau. Les diatomées sont mieux corrélées aux contaminations trophiques des milieux aquatiques, les lichens ont fait leurs preuves en tant que bioindicateurs de la qualité de l'air. C'est la raison pour laquelle il est conseillé de mettre en œuvre plusieurs bioindicateurs complémentaires pour établir un diagnostic robuste et intégré de la qualité d'un milieu.

**Le principal avantage de la bioindication est d'être une méthode intégratrice i) de l'impact des différentes pressions anthropiques, ii) de leur variation d'intensité dans le temps et enfin iii) de la variabilité naturelle des milieux.**

Les bioindicateurs couramment employés sont listés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Les bioindicateurs couramment employés (\* méthode DCE ou DCSMM compatible) (liste non exhaustive)

Communauté biologique ou élément de qualité biologique (EQB)	Méthode indiciaire (actuelle, en France) * = DCE/DCSMM compatible	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Macroinvertébrés benthiques	Indice biologique global normalisé (IBGN*)	Eau Cours d'eau	Dégradation de la qualité physicochimique générale de l'eau (en particulier vis-à-vis des teneurs en matière organique et des altérations morphologiques)
	Indice multimétrique (I <sub>2</sub> M <sub>2</sub> )	Eau Cours d'eau	Idem mais plus sensible et plus discriminant des perturbations que l'IBGN
	Indice mollusques (IMOL) Indice biotique lacustre (IBL) Indice oligochètes de bioindication lacustre (IOBL)	Eau Cours d'eau	
	Indice macroinvertébrés lacustre (IMAIL*)	Eau Plan d'eau des Alpes et du Jura	
Diatomées benthiques	Indice biologique diatomées (IBD*)  Indice de polluo-sensibilité spécifique (IPS)	Eau Cours d'eau Plan d'eau	Dégradation de la qualité physicochimique générale de l'eau (en particulier vis-à-vis des teneurs en matière organique et des concentrations en nutriments)
Macrophytes	Indice biologique macrophytique en rivière (IBMR*)  Indice biologique macrophytique en lac (IBML)	Eau Cours d'eau Plan d'eau	Dégradation de la qualité physicochimique générale de l'eau (Pollution organique et eutrophisation)
Poissons	Indice poissons rivière (IPR+*) = Indice multimétrique  Indice ichtyofaune pour les plans d'eau (IIL*)	Eau Cours d'eau Eaux de transition  Plan d'eau	Indice généraliste  Eutrophisation
Phytoplancton	Indice phytoplancton lacustre (IPLAC*)  Indice phytoplancton en grands cours d'eau en cours de développement	Eau Plan d'eau  Cours d'eau (grands cours d'eau et canaux)  Eaux de transition Eaux côtières	Dégradation de la qualité physicochimique générale de l'eau (en particulier vis-à-vis des concentrations en nutriments)
Angiospermes	Description, mesure de la densité, proportion de rhizomes qui progressent et de l'envasement, pourcentage de recouvrement, largeur foliaire, ratio épiphytes biomasse foliaire => Intégration de ces métriques => État de santé de	Eau/Eaux de transition ; Eaux côtières	Protocole adapté aux herbiers de Posidonie et de zoostères => impacts mécaniques ou de turbidité augmentée

Communauté biologique ou élément de qualité biologique (EQB)	Méthode indicielle (actuelle, en France) * = DCE/DCSMM compatible	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
	l'herbier		
Macroalgues	Mesure de la densité, pourcentage de recouvrement et cartographie	Eau Eaux de transition Eaux côtières	En lien avec l'eutrophisation et l'augmentation de la température
Invertébrés benthiques	Indice biotique (AMBI*) : Indice marin de la qualité écologique du benthos de substrat meuble. Il intègre les abondances relatives de cinq groupes écologiques d'endofaune benthique définis selon un gradient de sensibilité/tolérance à un stress environnemental. S'applique en Méditerranée  Indice biotique modifié (M-AMBI*) conçu pour une application en Atlantique et en Manche.	Eau Eaux de transition Eaux côtières	Il existe de nombreuses autres méthodes de bioindication qui n'ont pas été retenues dans le cadre de la DCSMM.  Pas d'indice sur substrats rocheux à ce jour.
Lichens	Méthode mise au point en 1986 par van Haluwyn et Lerond.	Air	Éléments Trace Métallique (ETM), azote
Cultures standardisées	Après développement en conditions contrôlées, les végétaux sont exposés pendant 2 mois	Air	Méthode d'évaluation du risque de contamination alimentaire lié aux retombées atmosphériques sur les végétaux consommés. ETM, ozone, Dioxyde de soufre
Macrofaune	Méthodes indicielles mise au point au cours du programme de recherche «bioindicateurs de qualité des sols» porté par l'ADEME dont les résultats ont été restitués en octobre 2012.	Sol	
Nématofaune totale	Norme NF ISO 23611-4 (2008): Qualité du sol — Prélèvement des invertébrés du sol — Partie 4: Prélèvement, extraction et identification des nématodes du sol.	Sol	Voir Fiche Outil F3 sur la Nématofaune rédigée dans le cadre du Programme Bioindicateur 2
Mésafaune (Collemboles et acariens)		Sol	Toutes les fiches rédigées dans le cadre de ce programme sont téléchargeables sur le site : <a href="https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/fiches-outils.php">https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/fiches-outils.php</a>
Lombriciens		Sol	
Espèces végétales		Sol	
Les communautés microbiennes (bactéries et champignons)	Méthode basée sur les indicateurs microbiens de l'état microbiologique des sols : Biomasse Moléculaire Microbienne, Empreinte Moléculaire des communautés, Diversité Taxonomique microbienne	Sol	Voir Fiche Outil M3 sur la Nématofaune rédigée dans le cadre du Programme Bioindicateur 2

Parmi ces organismes bioindicateurs, certains sont aussi bioaccumulateurs comme les lichens, les mousses ou les escargots. Ils ont la capacité d'absorber et concentrer certaines substances chimiques dans tout ou partie de leur organisme ([https://www.dictionnaire-environnement.com/bioaccumulation\\_ID478.html](https://www.dictionnaire-environnement.com/bioaccumulation_ID478.html)). Mesurer l'accumulation dans ces organismes permet de pallier les difficultés que l'on rencontre lors de mesures physico-chimiques directes (mise en place d'un protocole lourd de collecte et d'analyses, mesures ponctuelles) et constitue donc une technique environnementale robuste (Agnan 2013)

#### b. Les méthodes écotoxicologiques (bioessais)

Ils permettent de mesurer des effets sur les individus (toxicité aiguë – survie - et toxicité chronique - croissance, reproduction, etc) ou des effets au niveau moléculaire par l'étude de biomarqueurs<sup>3</sup>. Ces deux approches sont des méthodes écotoxicologiques. Elles permettent de connaître les mécanismes de toxicité et d'avoir des réponses précoces des effets des contaminants, et donc, théoriquement, de pouvoir intervenir avant d'avoir des effets sur les populations et les écosystèmes.

Ces bioessais peuvent être réalisés sur d) (Gosset, Ferro, and Durrieu 2015) :

- des procaryotes ou des eucaryotes ;
- des organismes photosynthétiques, producteurs primaires, des décomposeurs ou des organismes consommateurs ;
- des organismes unicellulaires, des invertébrés ou des vertébrés ;
- une espèce ou sur plusieurs (en micro ou mésocosme) ;
- et enfin au laboratoire ou *in situ* (méthode du caging).

Le choix de la méthode dépend du milieu que l'on souhaite étudier et de l'objectif de l'étude.

Il existe plusieurs méthodes écotoxicologiques couramment employées pour évaluer la toxicité de nombreuses molécules, sur toutes les matrices : eaux douces, eau de mer, air, sol, déchets. La plupart d'entre elles ont fait l'objet d'une normalisation et sont mises en œuvre dans un cadre réglementaire. Quelques exemples en sont donnés en annexe 7.

Les méthodes écotoxicologiques *in situ* sont présentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Quelques exemples de méthodes écotoxicologiques et de biomarqueurs employées *in situ*

Nom de la méthode ou organisme sentinelle utilisé	Méthode	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Gammarus ( <i>Gammarus fossarum</i> )	Méthode développée initialement par le Cemagref/Irstea puis par sa start up <b>BIOMAE</b> , qui en assure la mise en œuvre.  =>Mesure de la bioaccumulation des micropolluants minéraux et organiques) =>Mesure de biomarqueurs d'effets et d'impacts : •Marqueurs de toxicité générale : inhibition alimentaire, effets sur la reproduction (bioessai de reprotoxicité). •Marqueurs de perturbation endocrinienne chez les crustacés : désynchronisation de processus physiologiques tels que la mue, la croissance ovocytaire et le développement embryonnaire.  Marqueur de neurotoxicité : inhibition de l'activité enzymatique de l'ACHé, spécifique de l'exposition aux insecticides (famille des carbamates et des organophosphorés).	Eaux douces	Perturbateurs endocriniens, micropolluants

<sup>3</sup> Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant. Lagadic et al. (1997)

Nom de la méthode ou organisme sentinelle utilisé	Méthode	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Technologie développée par Watchfrog.  Actuellement la FrogBox en cours d'expérimentation permet une analyse <i>in situ</i> en continue et la télétransmission des résultats.	Méthode développée initialement par le MNHN et le CNRS puis par la start up <b>WATCHFROG</b> , qui en assure la mise en œuvre.  Partenariat commercial avec Véolia	Détection et quantification de la présence de polluants en utilisant des larves d'amphibiens et de poissons génétiquement modifiées qui expriment une fluorescence en présence de perturbateurs endocriniens ou de micropolluants. Chaque type d'organisme renseigne sur le type de perturbateur présent (thyroïdien et œstrogénique).	Demande de brevet français déposée par le CNRS le 30 mai 2002, intitulée « Embryons transgéniques de xénope et leurs utilisations pour la détection de perturbateurs endocriniens, et procédé correspondants » et demande de brevet international déposée par voie PCT le 27 mai 2003 (FR 0301598) et étendue en Europe (en cours de délivrance), aux Etats-Unis (délivré), au Canada (délivré) et au Japon (délivré)
Gymnotox développé par AquaMS	L' <i>Apteronotus albifrons</i> émet une fréquence électrique qui varie selon les caractéristiques chimiques de son milieu.	Surveillance de la ressource en eau potable (en continu, sur les bases vie en milieu hostile et en cas de menace terroriste). Surveillance des eaux du milieu naturel.	Détection globale de la qualité de l'eau
Technologies développées par Tronico-Vigicell  	Développement de bioessais associés sous forme de 5 panels (toxicité générale, perturbateurs endocriniens, génotoxicité, stress cellulaire, reprotoxicité).  Ces panels peuvent être associés sous forme de packs (réglementaire, découverte...) ou à façon en fonction des objectifs.  Méthode opérationnelle	Eaux douces	Tests simples, rapides, réalisés sur des cellules algales, humaines,..., pouvant être mis en œuvre directement sur l'échantillon (sans modification, extraction...).  Les résultats sont présentés sous forme de graphiques très visuels illustrant l'empreinte toxique de l'échantillon.
	Développement en cours d'un produit regroupant 3 packs (toxicité générale, perturbateurs endocriniens et génotoxicité).	Eau de mer	
	Développement d'un appareil mobile, le toximètre, mettant en jeu la réponse de 3 modèles cellulaires permettant la surveillance de la qualité des eaux en sortie d'usine de potabilisation, notamment du risque de malveillance (commercialisation fin 2017)	Eaux en sortie d'usine de potabilisation	
Mollusque : <i>Corbicula fluminea</i>	Méthode expérimentale d'exposition <i>in situ</i> : Toxicité aiguë et chronique, croissance, bioaccumulation, biomarqueurs enzymatiques (choline-esterase, enzyme cellulolytique) ou de comportement (filtration, alimentation, mouvements des valves)	Eaux douces	Cf article « What are the outcomes of an industrial remediation on a metal-impacted hydrosystem? A 2-year field biomonitoring of the filter-feeding bivalve <i>Corbicula fluminea</i> » (Arini et al. 2014)

Nom de la méthode ou organisme sentinelle utilisé	Méthode	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Indice PhytoMet	L'outil a été défini dans le cadre du programme Bioindicateurs II. Il intègre la phytodisponibilité et la toxicité potentielle des principaux ETMs. Il permet ainsi de discriminer nettement des sites multicontaminés vis-à-vis des risques de transfert vers les consommateurs primaires.	Sol	Voir Fiche Outil P1 sur les communautés végétales (rédigée dans le cadre du Programme Bioindicateur II)
Le Réseau Intégrateurs Biologiques (RINBIO), développé en partenariat avec l'Agence de l'Eau Rhône Méditerranée Corse et l'Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN) depuis 1996, a pour objectif d'évaluer les niveaux de contamination chimique et radiologique sur le bassin RMC. Il se base sur les capacités bioaccumulatrices de la moule.	Protocole standardisé et déployé maintenant à l'échelle des 1800 km de côtes en Méditerranée française (260 mouillages) <div data-bbox="646 654 906 1048" style="text-align: center;"> </div>	Eaux en milieu marin et estuarien	Métaux (Cd, Cu, As, ...), PCBs, Pesticides (DDT...), HAPs,...

### 3. Place des biocapteurs parmi les méthodes d'évaluation environnementale

Le schéma ci-dessous vise à synthétiser les différentes méthodes analytiques disponibles et leurs indications respectives pour diagnostiquer une contamination ou une pollution<sup>4</sup>. Les biocapteurs, et tout particulièrement les biocapteurs d'effets, se situent à l'interface entre les méthodes de mesure de polluants et les méthodes d'évaluation de leurs effets potentiels sur les organismes vivants.

<sup>4</sup> Selon le Larousse :

Dégradation de l'environnement par des substances (naturelles, chimiques ou radioactives), des déchets (ménagers ou industriels) ou des nuisances diverses (sonores, lumineuses, thermiques, biologiques, etc.). Bien qu'elle puisse avoir une origine entièrement naturelle (éruption volcanique, par exemple), elle est principalement liée aux activités humaines.

Selon la Directive Européenne 2000/60/CE du 23 octobre 2000 :

Introduction directe ou indirecte, par suite de l'activité humaine, de substances ou de chaleur dans l'air, l'eau ou le sol, susceptibles de porter atteinte à la santé humaine ou à la qualité des écosystèmes aquatiques ou des écosystèmes terrestres, qui entraînent des détériorations aux biens matériels, une détérioration ou une entrave à l'agrément de l'environnement ou à d'autres utilisations légitimes de ce dernier.

# CONTAMINATION

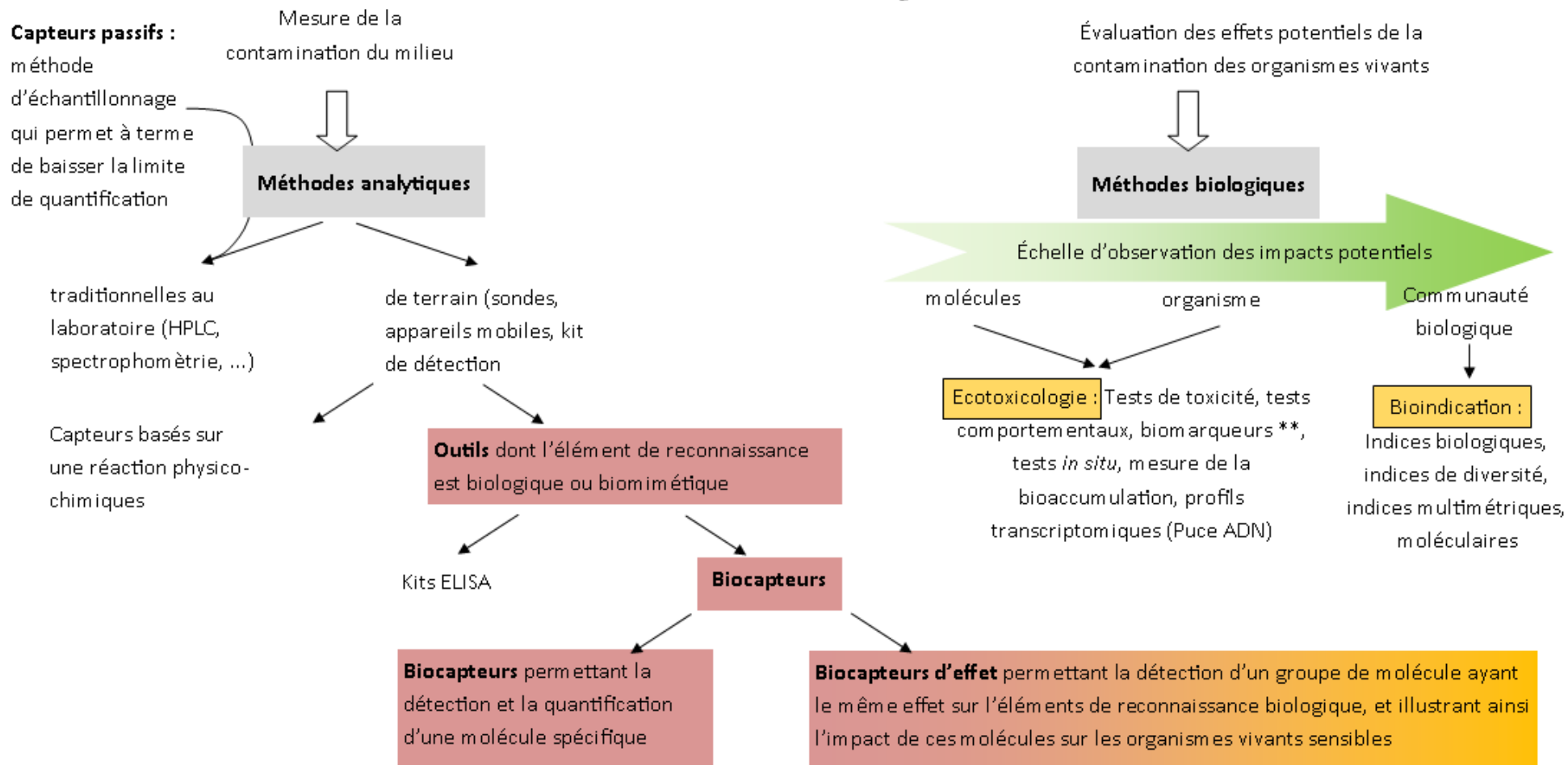
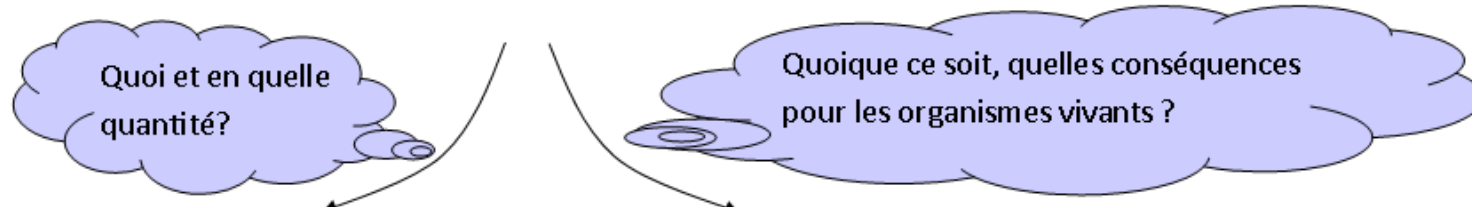


Figure 27 : Les méthodes d'évaluation d'une contamination dans l'environnement



\*\*Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic et al. 1997)

#### 4. Avantages communs à tous les biocapteurs

Les avantages potentiels, et dans plusieurs cas effectifs, communs à tous les types de biocapteurs s'entendent en général par rapport aux méthodes analytiques traditionnelles :

- **La simplicité** : Ils permettent la mesure des composés directement dans l'air ou l'eau sans passer par des étapes complexes de laboratoire (Hassan et al. 2016), et ainsi ne nécessitant pas de personnel spécialisé ni d'équipements coûteux (Bahadır and Sezgintürk 2015).
- Ils intègrent **la biodisponibilité** du composé puisque le récepteur est biologique (Hassan et al. 2016; Amaro et al. 2011).
- Ce sont des outils **précis, sensibles, rapides** (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007).
- Ils sont dotés d'une **grande facilité opérationnelle** pour des sites uniques. De plus, l'usage sur site limite les délais d'analyse et le risque d'altération (notamment d'oxydation) de l'échantillon durant le transport au laboratoire (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007). Cet avantage peut être particulièrement précieux dans le domaine de l'eau et de l'hygiène et la sécurité alimentaire ou dans des zones géographiques isolées. Les gestionnaires des territoires ultramarins français interrogés sont globalement très favorables aux développements de tels outils compte-tenu de leurs contraintes.
- Un biocapteur est par définition un appareil **compact et portable** (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007).
- D'autres critères sont particulièrement intéressants à considérer compte-tenu de l'usage qui est fait des biocapteurs :
  - Le **coût** (à l'achat comme à l'usage),
  - la **taille réduite de l'échantillon**,
  - la possibilité de produire des **analyses individuelles ou successives** d'un analyte ou d'un groupe d'analytes (Badihi-Mossberg, Buchner, and Rishpon 2007).
- Enfin, les biocapteurs, et plus particulièrement les biocapteurs d'effets, présentent l'avantage d'être **mieux corrélés aux impacts des polluants sur les organismes vivants**. Ils sont en cela plus pertinents que les mesures analytiques classiques et l'interprétation qu'on en fait actuellement (Philippe Le Louers, com. pers.).

#### 5. Inconvénients communs à tous les biocapteurs à usage environnemental

- La **sensibilité** et la **spécificité** : Ces 2 caractéristiques essentielles à un outil diagnostic sont assez souvent prises en défaut dès lors que l'appareil est testé sur des échantillons naturels
- La **reproductibilité** des résultats, autres critère primordial de la **robustesse** de l'appareil est très souvent moins bonne que la reproductibilité observée pour les méthodes traditionnelles.
- Les conditions d'utilisation des biocapteurs sont difficiles et entraînent rapidement une dérive des résultats en conditions réelles. Ce **phénomène d'encrassement** est souvent un verrou technique pour le concepteur d'autant plus que la maintenance de ce type d'appareil doit rester modérée.
- La **durée de conservation** et les **conditions de stockage** des consommables représentent aussi une difficulté pour le concepteur du fait de la nature biologique du récepteur et des conditions d'utilisation hors du laboratoire.



## 6. Les avantages et inconvénients spécifiques à chaque type de biocapteurs

Bien que possédant des avantages communs, la nature du biorécepteur comme celle du transducteur confèrent des avantages et inconvénients différentiels à chaque type de biocapteurs (Bazin et al. 2017).

Le Tableau 5 ci-dessous précise les principaux avantages et inconvénients liés à la nature du transducteur.

Tableau 5 : Avantages et inconvénients inhérents aux types de transducteurs (d'après Hassan et al. (2016b))

Type de transducteur	Avantages	Remarques	Inconvénients
Optique	Simple		Spécificité (sensible aux interférences lumineuses) Grande sensibilité à la présence de matière organique
	Détection multiples		
	Détection à distance		
	Électriquement neutre		
	Large gamme de mesure		
	Indépendant de la présence de sels => usage possible en milieu marin ou saumâtre		
Électrochimique	Sensible	=> Possibilité d'ajouter une 3 <sup>ème</sup> électrode « témoin » aux 2 autres électrodes (active et de référence) pour un encombrement et un surcoût raisonnables => Possibilité de faire des mesures différentielles et de compenser ainsi la grande variabilité des échantillons environnementaux (C. Gondran, com. pers.)	Spécificité (sensible aux interférences électrochimiques en présence de molécules autres que l'analyte)
	Facile à fabriquer		
	Se prête à la miniaturisation		
	Portable		
	Peu coûteux		
	Économe énergétiquement		
Thermique (calorimétrique)	Stable		Spécificité
	Se prête aux mesures en continu		
Mécanique (piézoélectrique)	Simple		Sensibilité
	Se prête aux mesures en continu		

Le Tableau 6 ci-dessous résume les principales caractéristiques de trois types de biorécepteurs couramment utilisés pour la détection des toxines dans les domaines de la sécurité alimentaire (mycotoxines, toxines bactériennes) et de l'environnement (en particulier en milieu marin).

Tableau 6 : Caractéristiques des différents types de biorécepteurs (d'après Bazin et al. (2017) et Hassani et al. (2017))

Type de biorécepteur	Propriété du biocapteur	Caractéristique
Enzyme	Acquisition	Technique <i>in vitro</i> , aucun recours aux animaux n'est requis
		ne permet de détecter qu'une enzyme ou son substrat
		Méthode nécessitant que l'enzyme soit dans des conditions physiologiques
	Stabilité	améliorée avec les enzymes recombinantes ou modifiées
		Faible longévité
		Conditions de stabilité étroites en terme de pH, température, conditions ioniques
	Spécificité	faible
Modifications	possibles	
Dénaturation	possible	
Autres	Immobilisation dans des conditions de densité bien définies et positionnement du site actif parfois délicat à obtenir Immobilisation sur plaque à des densités et localisations définies parfois difficile	
Anticorps	Acquisition	Technique <i>in vivo</i>
		prend plusieurs mois
		Ne permet pas d'obtenir un anticorps contre une molécule toxique ou faiblement immunogène (de petite taille par exemple)
		Manipulation impossible
		Conditions physiologiques oligatoires
		Choix d'un épitope en particulier sur une molécule cible difficile
	La molécule cible doit être présente en quantité pour être assez immunogène	
Identification laborieuse		
Stabilité	assez bonne dans le temps	
	Ne peut pas être améliorée	
	Conditions de stabilité étroites en terme de pH, température, conditions ioniques	
Spécificité	Conditions de conservation strictes (réfrigération et congélation)	
Modifications	Capacité de liaison à la molécule cible comparable à celle des aptamers, conditionnant des limites de détection de l'ordre du nMolaire ou pMolaire	
Dénaturation	difficiles et toujours biologiques	
Autres	possible	
Aptamers	Acquisition	Immobilisation sur plaque à des densités et localisations définies parfois difficile
		Technique <i>in vitro</i> , aucun recours aux animaux n'est requis
		ne prend que plusieurs semaines
		Il est possible d'obtenir un aptamer contre une molécule toxique ou faiblement immunogène (de petite taille par exemple)
		Manipulation possible pour obtenir des capacités de liaison ou des propriétés cinétiques particulières
	Stabilité	Conditions non physiologiques acceptables
		Choix d'un épitope en particulier sur une molécule cible possible
Spécificité	La molécule cible peut être rare pour la préparation de l'aptamer	
Modifications	assez bonne dans le temps (plusieurs années en cas de congélation)	
Dénaturation	peut être améliorée par des modifications	
Autres	Bonnes conditions de stabilité en terme de pH, température, conditions ioniques	
Aptamers	Stabilité	Conditions de conservation faciles (réfrigération et congélation ne sont pas nécessaires)
		Capacité de liaison à la molécule cible comparable à celle des anticorps, conditionnant des limites de détection de l'ordre du nMolaire ou pMolaire
	Modifications	faciles, possibles chimiquement, précises et reproductibles
	Dénaturation	possible et régénération possible
Autres	Se prête bien à la conception de plaques (microarrays)	

# Les différentes matrices cible

## 1.L'eau

La très grande majorité des technologies développées concernent l'eau. En effet, la nature biologique du récepteur implique la présence d'eau. À de rares exceptions près, les différentes étapes de mise en œuvre des biocapteurs s'effectuent dans l'eau même lorsque l'appareil est dédié à un usage dans l'air ou le sol.

## 2.L'air

### a. Les enjeux de la matrice air

La qualité de l'air dépend des odeurs, de la présence de polluants (COVs,...) et de particules ayant des effets néfastes pour la population, en particulier les personnes dites sensibles. Selon une estimation de l'OMS, en 2012, à l'échelle mondiale, 12.6 millions de décès pouvaient être attribués à la mauvaise qualité de l'air. Ce nombre de décès est 3 à 5 fois plus élevé dans certains pays d'Asie comme le Vietnam ou la Chine qu'en Europe. En Europe, les différentes mesures mises en œuvre font que la qualité de l'air s'améliore globalement, même si des épisodes de pollution atmosphérique restent préoccupants pour la santé humaine et très pénalisants économiquement.

La présence de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, ...) dans l'air et leurs impacts sur le dérèglement climatique justifient également une surveillance de la qualité de l'air. Cependant le marché est encore largement dominé par les méthodes physico-chimiques.

### b. Les méthodes analytiques actuellement employées

Comme pour les autres matrices, traditionnellement, un échantillonnage est requis avant la mise en œuvre des procédés analytiques employés pour la détection des polluants et particules dans l'air atmosphérique, les espaces clos et aux sites d'émission. Ces méthodes de prélèvement sont nombreuses et peuvent être ponctuelles, réalisées sur un temps donné jugé significatif (prélèvements accumulés) ou continues en temps réel. De nombreuses techniques existent et continuent d'être conçues pour améliorer les prélèvements accumulés, et par conséquent la fiabilité et la représentativité des mesures réalisées *in fine*.

Les analyses réalisées au laboratoire font appel à la chromatographie en phase gazeuse (GC) souvent couplée à un détecteur à spectrométrie de masse (GC-MS), la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC), la spectrométrie dont la spectrométrie infrarouge, la luminescence (chimiluminescence, fluorescence, phosphorescence), la spectrométrie d'absorption atomique.

Les avantages et inconvénients de ces méthodes traditionnelles ont été précisés précédemment.

L'émergence de capteurs de gaz ou de particules portables, à bas coût et connectés présente un réel intérêt pour la surveillance de la qualité de l'air en permettant de densifier les réseaux de mesure, d'établir des diagnostics en temps réels et de raccourcir les chaînes de décision. Nous avons identifié et rencontré 2 start-up présentes sur le territoire français :

- la société elichens (<http://www.elichens.com/>)
- la société In'Air Solutions (<http://www.inairsolutions.fr/en>)

Les solutions proposées concernent respectivement l'air urbain et l'air intérieur.

Il existe d'autres microcapteurs sur le marché comme en témoigne une récente étude menée par la RATP sur 6 d'entre eux. Les résultats ont montré que la calibration des appareils et leur fiabilité dans le temps (risque d'encrassement entraînant des phénomènes de dérive) étaient les principaux points de vigilance pour une utilisation dans les conditions particulières du réseau de métro parisien.

Les méthodes d'évaluation du risque lié à la qualité de l'air semblent évoluer actuellement, notamment en prenant mieux en compte les effets cocktails des molécules selon leur toxicité. Cette approche a

été mise en œuvre dans le cadre d'une étude menée en Asie par la société HPC International (<https://www.hpc.ag/fr/>). La prise en compte de la toxicité des molécules présentes et de leurs associations dans certaines zones géographiques permettrait de mieux caractériser la nature et l'intensité du risque pour la santé humaine et de mieux adapter la surveillance en fonction du territoire. L'association ATMO Auvergne-Rhône Alpes (<http://www.air-rhonealpes.fr>) travaille aussi en ce sens pour faire évoluer la surveillance de la qualité de l'air sur son territoire.

Concernant les odeurs (et non plus les molécules toxiques même si certaines sont odorantes), ATMO Normandie et la CIC Estuaire havrais ont mis en place un réseau de surveillance des odeurs par des personnes volontaires, citoyens ou personnels d'industries, qui peuvent devenir « nez » après formation. La société CMI Environnement Europe vient d'investir dans un olfactomètre qui repose aussi sur la détection et la quantification d'odeurs par des nez humains.

### C. Les biocapteurs sensoriels développés ou en cours de développement

Les biocapteurs olfactifs biomimétiques, ou nez électroniques, pourraient représenter une alternative aux microcapteurs reposant sur une technologie physique et aux nez humains. Cependant aucun biocapteur actuellement commercialisé n'a été identifié et les discussions menées au cours du colloque Atmos'Fair (Lyon, les 10 et 11 octobre 2017) ont révélés qu'aucune des personnes interrogées ne connaissait de tels appareils. Les diverses informations recueillies à cette occasion semblent indiquer que le marché des biocapteurs pour un usage dans l'air n'est absolument pas mature.

Des recherches sont néanmoins menées pour la conception de biocapteurs. Ils peuvent intégrer des biorécepteurs biologiques de différentes natures :

- Les **récepteurs olfactifs** exprimés à la surface cellulaire des neurones olfactifs des mammifères peuvent constituer d'excellents biorécepteurs. De même les récepteurs olfactifs des insectes sont intéressants et présentent l'avantage de fonctionner de manière plus simple et autonome que ceux des mammifères. Ce sont souvent les recherches menées dans le but d'identifier les récepteurs olfactifs des insectes qui ont conduit à la conception de biocapteurs intégrant ces biorécepteurs (Glatz and Bailey-Hill 2011).  
Les récepteurs olfactifs peuvent être extraits des tissus animaux et exprimés par un microorganisme ou une cellule eucaryote. Leur immobilisation à la surface du biorécepteur mobilise souvent des nanostructures (nanotubes de carbone ou de polymère conducteur, nanosomes, etc.) (Sankaran, Khot, and Panigrahi 2012). Des travaux concernant la mise au point de nanovésicules intégrant des récepteurs olfactifs ont aussi été menés (Calo et al. 2012).
- Les **protéines vectrices de molécules odorantes** sont des molécules protéiques solubles de faible poids moléculaire. Elles transportent les molécules odorantes à travers le mucus nasal aqueux au sein du système olfactif. Elles constituent également des potentiels biorécepteurs biologiques. Comme les récepteurs olfactifs, les protéines vectrices sont extraites de tissus animaux et exprimées à la surface de microorganismes, par exemple des levures. Les biocapteurs issus d'épithélium nasal de chien se sont montrés 10 à 100 fois plus sensibles que des biocapteurs issus d'autres espèces animales (Sankaran, Khot, and Panigrahi 2012).
- Les **neurones olfactifs** possèdent des milliers de récepteurs olfactifs répondant à des molécules odorantes variées. Ils constituent donc d'excellents biorécepteurs capables de fournir une réponse spécifique, sensible et rapide (Sankaran, Khot, and Panigrahi 2012).
- Des **polypeptides synthétiques** imitant le site de liaison de récepteurs olfactifs ou de protéines vectrices ont aussi été étudiés dans le but de concevoir des biocapteurs olfactifs. Ils présentent généralement l'avantage d'être plus stables, robustes, moins coûteux et parfois plus sensibles et spécifiques que les biorécepteurs extraits des tissus animaux (Sankaran, Khot, and Panigrahi 2012).
- Dickert et al. (1998) ont mis au point un **polymère à empreinte moléculaire (MIP)** adapté à un composé volatil, créant ainsi un biorécepteur.

La présence de molécules odorantes captées par le récepteur génère un signal transmis par des méthodes de transduction

- électrochimiques (potentiométriques, voltamétriques, transistors à effet de champs) ZhenZhong Guo (2014),

- piezoélectrique (résonance, microsystèmes électromécaniques)
- ou encore optiques.

Les signaux générés sont ensuite analysés et traités statistiquement afin de caractériser les échantillons. Les récepteurs olfactifs employés peuvent être synthétisés par des microorganismes (levures ou bactéries) génétiquement modifiées.

Glatz et Bailey-Hill (2011) évoquent la conception de plusieurs biocapteurs utilisables *in situ* pour lesquels la preuve de concept avait été obtenue. Ils précisent néanmoins qu'aucun transfert industriel ni commercial n'avait eu lieu en 2011. En voici deux exemples :

- Hou et al. (2007) ont prouvé que la détection et la mesure quantitative de molécules odorantes à partir d'un récepteur olfactif de rat était possible. Ce biorécepteur est enchâssé dans une électrode d'or recouverte par plusieurs couches auto-assemblées, offrant ainsi un environnement lipidique qui garantit la fonctionnalité du récepteur. La transduction est électrochimique (impédance).
- Les travaux de Benilova et al. (2008) visaient à concevoir un biorécepteur à partir d'un récepteur humain et sa protéine accompagnatrice<sup>5</sup> synthétisés par une culture de levure. Ce récepteur, intégré dans un biofilm à la surface d'une lame recouverte d'or, était associé à une transduction optique de type résonance plasmonique de surface (SPR).

Les biocapteurs olfactifs présentent de multiples avantages : fortes sensibilité, sélectivité et spécificité, délais de réponse courts, fabrication simple, biocompatibilité et biodégradabilité rapide.

Les applications de tels biocapteurs sont larges, comme le montre la Figure 28.

La détection rapide et précise des composés organiques volatils dans l'environnement, de molécules explosives ou de leurs précurseurs, ou encore de molécules illicites dans le domaine de la sécurité semblent être des domaines particulièrement porteurs actuellement (ZhenZhong Guo 2014)

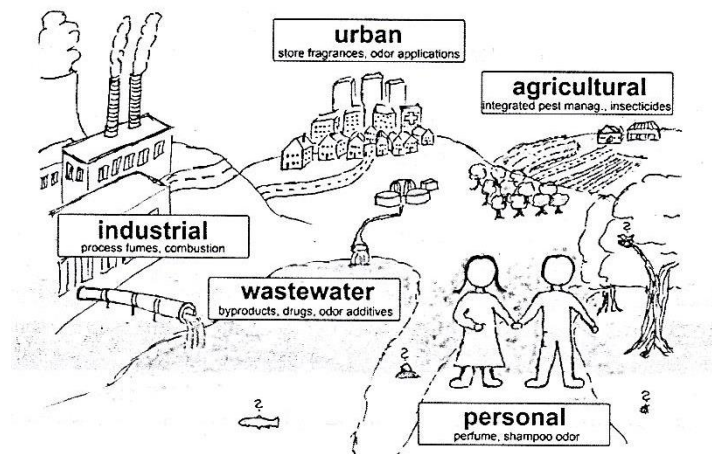


Figure 28 : Sources d'émissions atmosphériques d'origine anthropique (Wehrenfennig et al. 2013)

<sup>5</sup> NB : À la différence du système d'olfaction des insectes, celui des humains met en œuvre des réactions chimiques entre la reconnaissance de la molécule odorante par le capteur et la transmission du signal neuronal

La **société ARYBALLE Technologies**, créée il y a 3 ans, développe et commercialise le seul biocapteur fonctionnant strictement dans la matrice air. Ce biocapteur sensoriel intègre un transducteur optique fondé sur la technologie de Résonance Plasmonique de Surface (SPR) par imagerie adaptée à l'analyse sensorielle, initialement brevetée par le CEA-Grenoble et le CNRS.

Dans la conception de ce biocapteur, le choix du biorécepteur a été crucial et s'est porté sur des petites molécules protéiques (peptides), lipidiques ou glucidiques, quasiment à l'interface de la biochimie et de la chimie, qui n'ont pas besoin d'eau. Le choix est donc très restreint. Malgré leur petite taille, ces molécules gardent néanmoins une bonne partie de leurs propriétés fondamentales tant au niveau de leur structure (structures I<sup>re</sup> à III<sup>re</sup>) que de leurs fonctions, notamment leur capacité à établir des liaisons électrostatiques et de Van der Vals. Ce sont donc bien des mécanismes biochimiques qui sont en cause. Le biorécepteur transforme chaque odeur en un pattern biochimique lui-même transformé en un signal optique par le transducteur. La technologie est universelle et permet en théorie la détection des tous les COV (alcool, ester....), mais la spécificité n'est pas constante car certaines signatures se superposent. Des signatures très distinctes ont néanmoins été obtenues pour une trentaine de molécules. La sensibilité peut aussi être un peu faible (moins bonne qu'un odorat de chien).

Les applications sont évidentes pour les parfumeurs qui ajoutent une étape simple de pré-concentration dans un flacon. Dans le domaine de l'environnement, les applications sont la détection d'odeurs bactériennes et de nuisances olfactives en général issues de centres de traitement des déchets, STEP, élevages, industries. La surveillance de la qualité olfactive de l'air intérieur est aussi un marché : chambre d'hôtel, sanitaires... Le marché lié à l'anosmie (perte d'odorat) est également visé par la société Aryballe Technologies. (Tristan Rouselle, com. pers.)

#### d. Les biocapteurs conçus pour la surveillance de molécules toxiques

L'évaluation de la qualité de l'air intérieur est également un domaine d'application potentiellement porteur pour les biocapteurs comme pour les microcapteurs évoqués précédemment. Parmi les molécules recherchées, le formaldéhyde est un composé hautement toxique et carcinogène. Le formaldéhyde, utilisé dans l'industrie, peut également être présent dans l'eau. Monkawa et al. (2015) ont conçu un bioessai enzymatique original, basé sur un cycle enzymatique (Figure 29) pour la détection du formaldéhyde dans l'air. En présence de formaldéhyde, la réaction enzymatique a lieu et la coloration jaune du WST-8 formazan apparait. Elle est mesurée par un spectrophotomètre. Ce biocapteur présente également la singularité de pouvoir être employé dans l'eau (limite de détection = 15ppb) et dans l'air (limite de détection = 5ppb) grâce à un procédé permettant la dissolution du formaldéhyde gazeux dans l'eau. Ces limites de détection sont compatibles avec la limite pour la qualité de l'air intérieur résidentiel fixée à 80 ppb par l'organisation mondiale pour la santé (OMS). Cette méthode est, en outre, rapide et spécifique (grâce à la formaldéhyde deshydrogénase). Le signal émis étant lumineux, une miniaturisation est possible et permettrait de concevoir un appareil mobile et peu couteux.

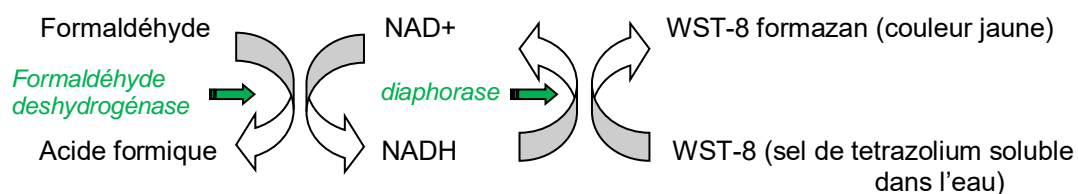


Figure 29 : Cycle enzymatique à l'origine de la détection du formadéhyde

Il existe d'autres travaux actuellement en cours, notamment une thèse sur le développement d'un biocapteur microbien, outil d'alerte de pollution globale pour la surveillance des aires urbaines sous la direction de Gérald Thouand.

### 3. Les solides (sol, déchets solides)

Aucun biocapteur commercialisé n'a pu être identifié concernant ces matrices solides.



Comme pour les autres matrices, de nombreux travaux de recherche ont été conduits. Certains visent la conception de bioessais à cellules entières génétiquement modifiées pour exprimer un signal fluorescent en présence de la molécule cible (Figure 30) (Tecon and van der Meer 2008).

Ces bioessais sont généralement réalisés sur des échantillons d'eau mais ils peuvent concerner des échantillons de sols contaminés **la plupart du temps après une étape d'extraction**. Toba and Hay (2005) ont mis au point un bioessai dans lequel les cellules génétiquement modifiées étaient fixées sur un filtre qui était mis **en contact direct avec le sol potentiellement contaminé**. Après une exposition d'une heure, le filtre était retiré et l'expression de la protéine fluorescente (la luciférase) mesurée. Ce bioessai a permis de détecter un pesticide (le 2-4-D) présent à des concentrations allant de 1 à 50 mg/Kg de sol.

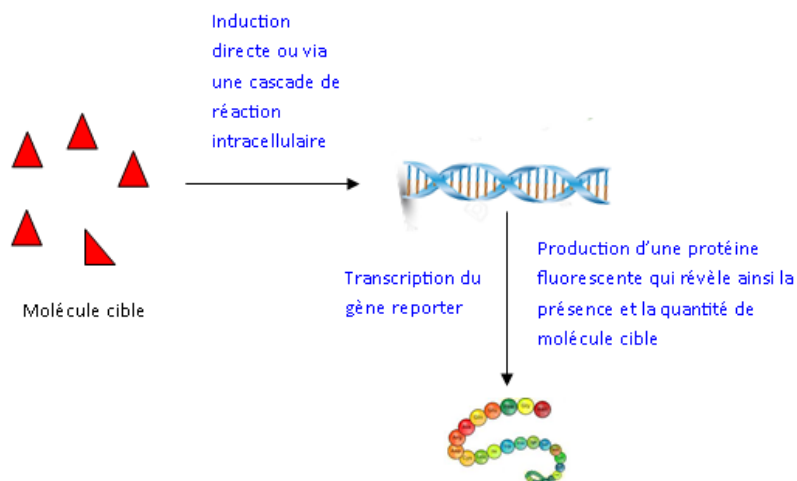


Figure 30 : Principe des bioessais à cellule entière génétiquement modifiée

La complexité de la matrice sol et son hétérogénéité, responsable de la variation de la biodisponibilité des micropolluants, font que les méthodes analytiques traditionnelles et les biocapteurs sont très difficiles à concevoir et à étalonner. Les bioindicateurs et les biomarqueurs sont des outils d'autant plus pertinents pour cette matrice (Hélène Cérémonie, com. pers.).

Au cours du programme national « Bioindicateurs », porté et financé par l'ADEME, un grand nombre d'outils de bioindication et de biomarqueurs ont été élaborés, validés et diffusés pour une utilisation en routine. Ce programme, initié en 2004, a été séquencé en deux phases de quatre ans chacune. La première phase a permis d'évaluer et de tester un ensemble de 80 bioindicateurs dans différentes situations et basés sur des compartiments biologiques variés. Au cours de la seconde phase, les indicateurs jugés les plus pertinents ont été retenus pour être calibrés et comparés sur des sites ateliers communs, correspondant à différents usages du sol (ex: agricole, urbain, forestier) et différentes problématiques environnementales (ex : pratiques agricoles, épandage de déchets, sites contaminés). Certains d'entre eux sont maintenant opérationnels voire en voie de normalisation auprès de l'AFNOR ou déjà normalisés. Ils ont fait l'objet de fiches outils téléchargeables sur le site de l'ADEME et résumées dans le Tableau 7

([http://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/fiche\\_outil\\_1\\_18.pdf](http://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/fiche_outil_1_18.pdf)).

Les travaux conduits sur le compartiment microbien à travers ce programme national « Bioindicateurs » font écho à d'autres travaux réalisés par Smith et al. (2015). Ces auteurs ont montré que le métabarcoding des bactéries naturellement présentes dans un sol permettait de distinguer les sols non pollués de ceux contaminés par l'uranium, les nitrates ou des hydrocarbures, et cela même lorsque les contaminations ne sont plus détectables par les méthodes analytiques traditionnelles.

Des méthodes de phytoscreening et dendrochimie ont aussi été récemment développées, également dans le cadre de projets portés par l'ADEME. Les arbres permettent via le phytoscreening (analyse de la partie superficielle du tronc des arbres) d'analyser des échanges récents avec la nappe phréatique et de dater les pollutions via la dendrochimie (analyse d'un échantillon de bois allant de l'écorce jusqu'au cœur). L'analyse des nombreuses données obtenues en dendrochimie est désormais facilitée par le logiciel libre, SCANCHEM. Ces méthodes permettent par exemple la détection de solvants chlorés légers comme le perchloréthylène (cf projet SILPHES) et aussi celle des métaux,

HAP, PCB, pesticides, dérivés azotés et radionucléides. Cependant la sensibilité de la méthode en fait un outil d'alerte plus qu'un outil de surveillance sur le long terme. Des recherches sont encore nécessaires pour comprendre les mécanismes de contamination et de transfert des polluants entre sols, nappes phréatiques et arbres. En effet, on ne peut pas totalement écarter les expositions aériennes via les feuilles, épines et écorces. Intéressant de faire en complément un suivi sur ces compartiments ("Proceedings 3ème Rencontres Nationales de La Recherche Sur Les Sites & Sols Pollués" 2014).



Tableau 7 : Projets de recherche développés dans le cadre du programme « Bioindicateurs de la qualité des sols » porté par l'ADEME et ayant fait l'objet de fiches outils

Nom de l'indicateur	Bioindication /Ecotoxicologie	Organisme cible	Type de pollution	Type de bioindicateur/principe
Les escargots, bioindicateurs de la biodisponibilité de contaminants sur site – Indice SET : Somme des Excès de Transfert.	Bioindication active in situ	Escargots	divers contaminants, surtout ETM	Bioindicateurs d'accumulation : l'analyse des concentrations internes est réalisée dans les viscères d'escargots exposés 28 jours sur site (= méthode statique2 : 1 seule durée d'exposition). Les analyses sont généralement faites dans cette partie du corps qui concentre souvent les contaminants (métaux notamment)
Oméga 3 : les acides gras des végétaux outils de diagnostic et de surveillance de la pollution des sols.	Biomarqueur biochimique	Végétaux	divers contaminants (métaux et organiques)	Norme de la méthode d'analyse : AFNOR XP-X31 233 - Qualité du sol - Effets des sols contaminés sur la composition en acides gras foliaires de Lactuca sativa.
Les teneurs foliaires en éléments traces métalliques (ETMs) dans les communautés végétales, indicateur de la phytodisponibilité des contaminants, l'indice Phytomet.	Bioindicateurs d'accumulation	Végétaux	EMT (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn)	Les analyses de la composition élémentaire des échantillons minéralisés, sont réalisées par spectrométrie d'émission atomique (ICP-AES). Un descripteur unique, l'indice PhytoMet, intégrant la phytodisponibilité et la toxicité potentielle des principaux ETMs peut être calculé ensuite et permet de discriminer nettement des sites multicontaminés vis-à-vis des risques de transfert vers les consommateurs primaires.
les activités enzymatiques du sol liées à l'activité des microorganismes	Biomarqueurs de fonctionnement du sol.	Microorganismes	divers contaminants (métaux (As) et organiques)	Ces indicateurs permettent l'évaluation de la qualité des sols, et ainsi l'orientation plus judicieuse des procédures de gestion des sols. Ils permettent aussi de mettre en évidence des contaminations notamment organiques et métalliques sur les sites pollués
Détermination de la respiration des sols à l'aide du système automatisé Oxitop®	Bioindicateur d'effet in situ	Microorganismes		Le système Oxitop® control est une marque déposée (WTW, Weilheim, Allemagne) permettant la mesure en continu de la respiration microbienne des sols. Le système, ainsi que les protocoles de mesure, sont disponibles auprès du fournisseur et des distributeurs. Ils ont fait l'objet de procédures de normalisation ; Normes ISO 16072 : 2002 et DIN 19 737.
Les vers de terre, densité et biodiversité des communautés lombriciennes.	Bioindicateur d'effet in situ	Lombriciens		L'OPVT (Observatoire Participatif des Vers de Terre) est un outil d'évaluation simplifié de la biodiversité des sols à l'aide des vers de terre. <a href="http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT_accueil.php">http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/OPVT_accueil.php</a>
La nématofaune = la communauté des nématodes libres et phytophages vivants dans le sol. Les nématodes du sol sont des vers microscopiques (de l'ordre d'1 millimètre de longueur).	Bioindicateurs d'effets et d'impacts	Nématodes	divers contaminants	Sur la base de la composition et de l'abondance de la nématofaune du sol, des indices sont calculés (SI, indice de structure; EI, Indice d'enrichissement; MI, Indice de maturité; PPI, Indice des nématodes PhytoPhages et le IVD, Indice des Voies de Décomposition de la matière organique. Les méthodes sont normalisées : NF EN ISO 23611-4 oct 2011
Les microarthropodes du sol (Acariens et Collemboles), bioindicateurs de la qualité des sols	Bioindicateurs d'effet in situ	Microarthropodes du sol		Les protocoles de prélèvement sont aujourd'hui bien définis et normalisés (ISO 23611-2. 2004).
Des outils moléculaires pour diagnostiquer l'état microbiologique du sol	Bio-indicateurs pertinents, précoces et sensibles de l'évolution des sols	Microorganismes		Trois indicateurs moléculaires microbiens permettant de faire l'évaluation environnementale : Indicateur Biomasse Moléculaire Microbienne, Indicateur Empreinte Moléculaire des communautés microbiennes (bactéries et champignons), Indicateur Diversité Taxonomique microbienne. Les analyses moléculaires sont mises en oeuvre au sein de la plateforme GenoSol.
Biomasse Moléculaire Microbienne	Bioindicateur de qualité globale du sol	Microorganismes		La technique repose sur la quantification de l'ADN extrait directement à partir de l'échantillon de sol. Les protocoles d'extraction et de quantification sont développés et standardisés par la plateforme GenoSol
Empreinte moléculaire des communautés microbiennes du sol	Indicateur d'impact et de stabilité de la vie microbienne du sol	Microorganismes	diverses contaminations (métaux, HAP, ...)	L'analyse moléculaire de la structure génétique des communautés repose sur la méthode de génotypage des communautés microbiennes (bactéries et champignons) appelée ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis)

Nom de l'indicateur	Bioindication/ecotoxicologie	Organisme cible	Type de pollution	Type de bioindicateur/principe
Diversité Taxonomique Microbienne (pyroséquençage)	Indicateur du fonctionnement biologique du sol	Microorganismes		L'inventaire taxonomique des espèces présentes est réalisé directement à partir de l'ADN extrait du sol. Le protocole standardisé nécessite des équipements et des compétences techniques de pointe.
Expression génique de la métallothionéine chez les vers de terre, un indicateur de contamination métallique, notamment par le cadmium.	Biomarqueurs de l'impact écologique potentiels de contaminations	Lombriciens	pesticides, les hydrocarbures et les ETMs provenant de sources anthropiques	L'analyse des changements d'expression des gènes chez des organismes sentinelles permet de diagnostiquer l'existence d'un stress dans une population et d'en analyser de façon mécanistique la réponse
Diversité métabolique potentielle des bactéries cultivables du sol (DMP) représentée par la richesse fonctionnelle (RF : nombre de puits positifs) et l'activité métabolique globale de la plaque (AWCD).	Biomarqueurs d'effet et d'exposition.	Microorganismes	divers contaminants (métaux et organiques)	Le dispositif Biolog a été adapté pour l'étude des bactéries de l'environnement et standardisé pour les bactéries du sol. La DMP permet souvent d'observer des effets liés aux modifications de l'occupation du sol et de son usage, aux contaminations métalliques et organiques, et aux modifications physico-chimiques des sols.
Biomasse moléculaire fongique estimée par quantification de l'ergostérol extrait du sol.	Biomarqueur d'effet et d'exposition	Champignons	divers contaminants (métaux et organiques)	Le marqueur « ergostérol » intègre tous les facteurs modulant la biomasse fongique des sols, il apporte des informations sur la dynamique des communautés fongiques. Enfin il peut permettre de qualifier l'effet de pratiques agricoles, de polluants organiques ou métalliques (tout étant égal par ailleurs).
Bioaccumulation des éléments métalliques par les micromammifères	Bioindicateurs d'accumulation	Micromammifères	ETM	L'analyse des concentrations internes en éléments trace métallique (ETMs) est réalisée dans les organes cibles (reins) ou d'accumulation (foie) des micromammifères.
Fonctionnement des systèmes photosynthétiques des plantes supérieures, bio-indicateur de la contamination des sols.	Biomarqueur d'effet	Végétaux		La mesure des paramètres est effectuée in situ grâce à des appareils portables. Cette méthode permet de caractériser la qualité d'un sol avant l'apparition de symptômes de stress au niveau des plantes. L'indice permet d'évaluer la présence ou non de contamination des sols et est complémentaire aux analyses physico-chimiques.
Biomasse moléculaire fongique estimée par quantification des ADN ribosomiaux spécifiques des champignons.	Biomarqueur d'effet et d'exposition.	Champignons		La biomasse moléculaire fongique permet de déceler les impacts anthropiques liés au travail du sol ou à la présence de polluants (diminution de la biomasse). Cette métrique varie en fonction du type et l'âge du peuplement végétal qui agit qualitativement et quantitativement sur les champignons.

## VIII. Biocapteurs développés ou en cours de développement ciblés sur des groupes de molécules d'intérêt

### 1. Les perturbateurs endocriniens

#### a. Définition

De nombreux composés chimiques d'origine anthropique ou naturelle sont maintenant connus pour modifier le fonctionnement normal du système endocrinien de l'homme et des animaux et d'induire des pathologies sévères chez les organismes vivants et leur descendance. Ce sont des perturbateurs endocriniens.

La définition des perturbateurs endocriniens la plus communément admise est celle proposée par l'Organisation mondiale de la santé en 2002 : "Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange de substances, qui altère les fonctions du système endocrinien et de ce fait induit des effets néfastes dans un organisme intact, chez sa progéniture ou au sein de (sous)- populations".

La définition réglementaire d'un perturbateur endocrinien a, quant à elle, été adoptée par la Commission européenne le 28 juin 2017. Le texte mentionne « qu'une substance phytopharmaceutique ou biocide est considérée comme un perturbateur endocrinien si elle a des effets indésirables sur la santé humaine ». Cette définition a très récemment été invalidée (4 octobre 2017) par le Parlement européen qui a jugé que le niveau de preuve de toxicité exigé était trop élevé et que, par conséquent, trop de molécules potentiellement toxiques ne seraient pas considérées comme des perturbateurs endocriniens.

La nature chimique, l'origine et les usages de ces molécules sont très variés. Les alkylphénols, le bisphénol A (issu de la dégradation de matières plastiques et de certaines résines), des composés chlorés, des pesticides, le 17 $\alpha$  éthinyl-œstradiol (contraceptif), des phyto-œstrogènes, des myco-œstrogènes, etc. sont des perturbateurs endocriniens connus mais il existe de nombreuses autres molécules ayant potentiellement cette même toxicité.

Le rapport d'expertise collective AFSSET-INSERM - Cancer Environnement propose la liste non exhaustive ci-dessous :

<b>Pesticides</b>	Acetochlor, Alachlor, Aldrin, Allethrin, Amitrol, Atrazine, Carbaryl, Chlordane, Chlofentezine, p,p'-DDE, DDT, Dieldrin, Dicofol, Endosulfan, Éthylène thiourée, Fenarimol, Fenbuconazole, Fenitrothion, Fenvalarate, Fipronil, Heptachlor, Heptachlor epoxide, Iprodione, Kepone, Ketoconazole, Lindane, Linuron, Malathion, Mancozeb, Maneb, Methomyl, Methoxychlor, Metribuzen, Mirex, Nitrofen, Nonachlor, Oxychlordane, Pentachloronitrobenzene, Permethrine, Procymidone, Prodiamine, Pyrimethanil, Sumithrin, Tarstar, Thiazopyr, Thiram, Toxaphene, Tributylétain, Trifluralin Vinclozolin, Zineb, Ziram (T)
<b>Divers</b>	Butyl-hydroxyanisole, Phtalates, Benzophenone, Bisphenol A, benzo(a)pyrene, Carbendazim, Éthane-diméthane-sulfonate, Perfluorooctane sulfonates, Alkylphénols, Resorcinol, Styène dimères, trimères, Cd, Pb, Hg
<b>Organohalogénés persistants</b>	1,2-dibromoéthane, Chloroforme, Dioxines et furanes, Octachlorostyrene, PCBs, PBDEs, Pentachlorophenol, TBBPA

#### b. Origine

Le Tableau 8 ci-dessous issu du même rapport précise l'origine des différentes catégories de perturbateurs endocriniens. Ces molécules sont des polluants classiques, largement identifiés dans l'environnement depuis longtemps et issus de toutes les activités humaines. Ils ont été identifiés dans toutes les matrices.

Tableau 8 : Exemples de famille de composés perturbateurs endocriniens et leurs sources de diffusion dans l'environnement

Famille chimique	Sources potentielles	Exemples
Phtalates	Plastiques, cosmétiques	Dibutyl phtalate
Alkylphénols	Détergents, plastiques, pesticides	Nonylphenol
Retardateurs de flamme	Mousses pour les mobiliers, tapis, équipements électroniques	Polybromodiphényles (PBDE)
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	Sources de combustion : fumée de cigarette, émissions des moteurs diesels, incendies	Benzo(a)pyrène
Polychlorobiphényles	Transformateurs électriques	PCB, Arochlor
Anciens pesticides	Résiduels de stockage, pollution rémanente	DDT, dieldrine, chlordane
Pesticides actuels	Agriculture, nettoyages urbains, jardins particuliers	Cf. tableau précédent
Dérivés phénoliques	Désinfectants, plastiques, cosmétiques	Bisphénols A, parabens, halogéno-phénols

### C. Les biocapteurs développés pour la détection des perturbateurs endocriniens

L'usage de biocapteurs d'effet dont le fonctionnement peut être fondé sur les effets biologiques des molécules cible plus que sur leur nature physico-chimique s'avère particulièrement pertinent pour la détection de polluants perturbateurs endocriniens (Zhenzhong 2014). De plus, les méthodes classiques de détection et de mesures de ces polluants (HPLC) sont coûteuses, chronophages et nécessitent du personnel hautement qualifié, elles sont donc pénalisantes pour une véritable évaluation du risque et des études épidémiologiques à grande échelle. C'est pourquoi il existe déjà de nombreux travaux visant le développement de biocapteurs permettant la détection de perturbateurs endocriniens, notamment du  $17\beta$  œstradiol. La plupart de ces biocapteurs sont électrochimiques ou optiques, le récepteur étant un anticorps, un aptamère ou un récepteur membranaire œstrogénique. Cependant, même si la plupart des travaux identifiés apportent la preuve de concept de la technologie, dans la plupart des cas, d'autres développements méthodologiques sont indispensables pour la conception de biocapteurs *sensu stricto*.

Des tests sur échantillons naturels ont parfois été conduits avec succès, par exemple, sur des effluents d'hôpitaux dans le cas des travaux menés par Zhenzhong (2014) ou pour tester un biocapteur à aptamère permettant la détection de  $17\beta$  œstradiol avec une sensibilité de l'ordre du femtomolaire (Nguyen, Kwon, and Gu 2017).

Les tableaux 9 et 10 ci-dessous listent les différents types de biocapteurs développés avec l'objectif de mettre en évidence et de mesurer le  $17\beta$  œstradiol et le bisphénol A dans l'environnement. Certaines de ces méthodes permettent également la mesure d'autres molécules ayant une activité œstrogénique ou des composés phénoliques proches du Bisphénol A.

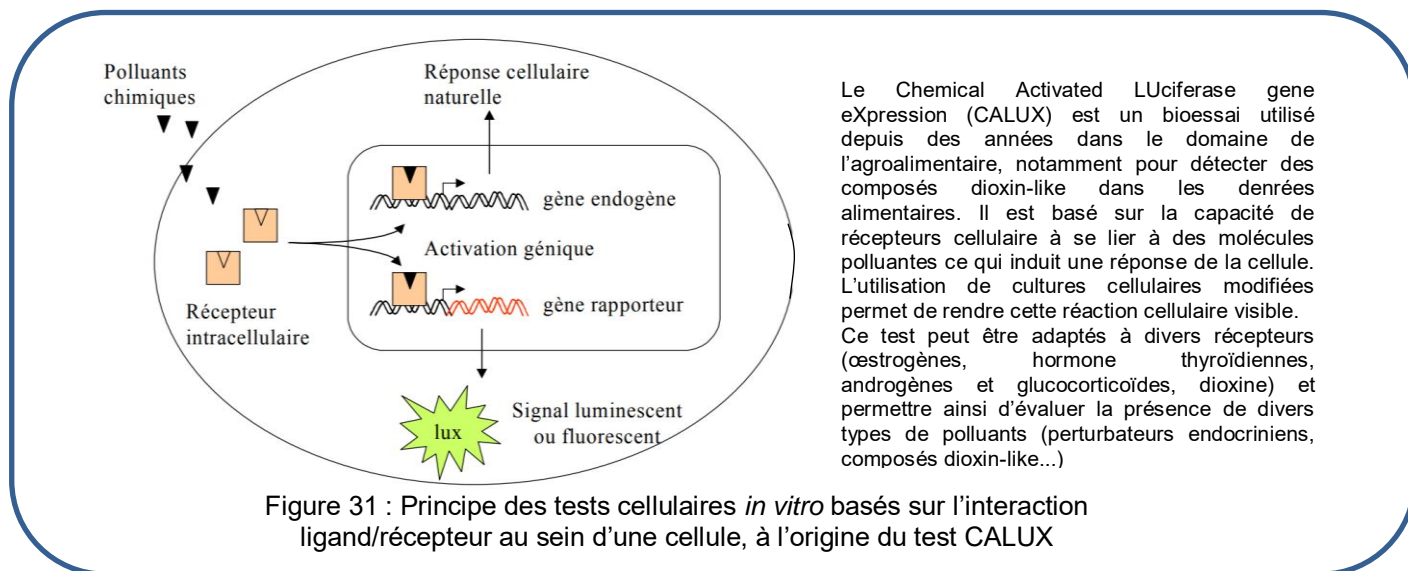
Aucun biocapteur commercialisé n'a été identifié que ce soit à la faveur des recherches menées dans les diverses bases de données ou des nombreux entretiens conduits.

Il existe néanmoins des kits de diagnostic commercialisés par la société ABRAXYX. Ces tests reposent sur une technique ELISA basée sur une réaction biologique mais qui ne répond pas à la définition *sensu stricto* d'un biocapteur.

#### d. Autres approches concernant les perturbateurs endocriniens : les bioessais

De gros efforts de recherche ont été réalisés notamment à la faveur du programme ECHIBIOTEB (ANR Ecotech 2010) dont l'objectif a été de développer et de mettre en œuvre des technologies innovantes d'échantillonnage et de mesures chimiques et biologiques pour le suivi des procédés avancés de traitement des eaux usées urbaines et des boues. Ces recherches ont abouti

- au développement des POCIS (Polar Organic Chemical Sampler) et des SPMD (Semi Permeable Membrane Device) respectivement utilisés pour échantillonner les composés hydrophiles et les composés hydrophobes ;
- à la mise au point d'une batterie de bioessais *in vitro* complémentaires, comprenant
  - le SOS Chromotest => mise en évidence de molécules génotoxiques et pro-génotoxiques (HAP, HAP nitrés, amines aromatiques, nitrosamines, certains pesticides et solvants organochlorés, métaux lourds, anticancéreux),
  - des tests sur divers lignées cellulaires et divers récepteurs cellulaires (œstrogènes, hormone thyroïdiennes, androgènes et glucocorticoïdes, dioxine), tel le CALUX (Figure 31)
- à la mise au point de bioessais *in vivo*, pour évaluer les effets des micropolluants en mélange sur des organismes biologiques représentatifs des milieux récepteurs des rejets étudiés (sols et rivières). Pour cela quatre types d'organismes ont été testés : les gammares (crustacés), les chironomes (insectes), les potamos (mollusques) ainsi que des larves de médakas (poissons). Différentes réponses sont étudiées telles que la survie, la croissance, le taux d'alimentation, la reproduction, ...
- à la recherche de nouvelles molécules par une démarche EDA (Effect Directed Analysis).



Des bioessais colorimétriques basés sur des cellules de levures modifiées, intégrant un récepteur œstrogénique ou androgénique, ou des bactéries (*Comamonas testoreni*), présentes dans l'eau et le sol, exprimant naturellement des enzymes capables de dégrader des stéroïdes, ont également permis d'identifier des œstrogènes et des androgènes dans des eaux courantes de surface, des eaux souterraines, des stations d'épuration ou encore des élevages laitiers, avec une sensibilité de l'ordre du ng/L (Maser and Xiong 2010).

BIOMAE et WATCHFROG commercialisent des bioessais *in vitro* et *in vivo* sur le même principe que ceux mis en œuvre dans le cadre d'ECHIBIOTEB (cf Tableau 4, p47). Bien que très pertinents pour l'évaluation de la qualité des milieux et des risques, ces méthodes ne sont pas des biocapteurs *sensu stricto*.

Tableau 9 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du 17β œstradiol principalement

Travaux de recherche									
Molécule	Type de récepteur	Type de transducteur	Type de signal	Matrice	Stade de maturité technologique	Limite de détection	Gamme de détection	Références bibliographiques	
17β œstradiol	Aptamère (ADN)	Puce fonctionnalisée avec de l'or	Electrochimique (square wave voltametry ou SWV)	Eau	Recherche appliquée permettant de faire la preuve du concept et de déterminer les principales caractéristiques de la méthode.	1pM	10pM - 1nM	Y. S. Kim, H. S. Jung, T. Matsuura, H. Y. Lee, T. Kawai, M. B. Gu, Electrochemical detection of 17β-estradiol using DNA aptamer immobilized gold electrode chip. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 22, 2007, 2525-2531.	
17β œstradiol	Aptamère (ADN)	Electrode fonctionnalisée avec de l'or	Electrochimique (Impédance)			2pM	10pM - 10nM	Z. Y. Lin, L. F. Chen, G. Y. Zhang, Q. D. Liu, B. Qiu, Z. W. Cai, G. N. Chen, Label-free aptamer-based electrochemical impedance biosensor for 17β-estradiol. <i>Analyst</i> , 137, 2012, 819-822.	
17β œstradiol	Récepteur membranaire à œstradiol	Electrode fonctionnalisée avec de l'or	Electrochimique (Impédance)			0,1 pM	0,1 pM - 1 nM	B. K. Kim, J. Li, J. E. Im, K. S. Ahn, T. S. Park, S. I. Cho, Y. R. Kim, W. Y. Lee, Impedometric estrogen biosensor based on estrogen receptor alpha-immobilized gold electrode. <i>Journal of Electroanalytical Chemistry</i> , 671, 2012, 106-111.	
17β œstradiol	Anticorps	Electrode fonctionnalisée avec de l'or modifié par des nanoparticules	Electrochimique (Impédance et SWV)			66pM (SWV) 95 pM (impédance)	0 - 4,4 nM (SWV) 0- 3,6 nM (Impédance)	X. Liu, P. A. Duckworth, D. K.Y. Wong, Square wave voltammetry versus electrochemical impedance spectroscopy as a rapid detection technique at electrochemical immunosensors. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 25, 2010, 1467-1473.	
17β œstradiol et autres perturbateurs endocriniens	Récepteur membranaire à œstradiol dans une double couche lipidique	Electrode fonctionnalisée avec de l'or modifié par des nanoparticules	Electrochimique (Impédance)			1 ng/L (17β œstradiol)	5-150 ng/L (17β œstradiol) 76-180 µg/L (Bisphenol A) 30-890 µg/L (4-nonylphenol)	W. Xia, Y. Y. Li, Y. J. Wan, T. A. Chen, J. Wei, Y. Lin, S. Q. Xu, Electrochemical biosensor for estrogenic substance using lipid bilayers modified by Au nanoparticles. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 25, 2010, 2253-2258.	
17β œstradiol, diethylstilbestrol (DES), 4-nonylphenol (NP) and 4-n-octylphenol (OP)	Récepteur membranaire à œstradiol, recombinant, immobilisé sur une surface fibreuse (compétition entre les xœstrogènes de l'échantillon et les anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur et marqués)	Fibre optique	Optique (Fluorescence)				0,07-0,41 ng/mL	Liu, LH; Zhou, XH; Lu, Y; Shan, DD; Xu, B; He, MA; Shi, HC; Qian, Y, Facile screening of potential xœstrogens by an estrogen receptor-based reusable optical biosensor, <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 97, 2017, 16-20.	
17β œstradiol	Récepteur membranaire à œstradiol dans une membrane à empreinte moléculaire (MIP)	Electrode fonctionnalisée avec du platineum modifié par des nanoparticules	Electrochimique (Impédance)				16 nM	30nM - 50 µM	L. Yuan, J. Zhang, P. Zhou, J. Chen, R. Wang, T. Wen, Y. Li, X. Zhou, H. Jiang, Electrochemical sensor based on molecularly imprinted membranes at platinum nanoparticles-modified electrode for determination of 17β-estradiol. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 29, 2011, 29-33.
17β œstradiol	Nanotubes	Electrode de carbone modifiée avec un film nano-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Electrochimique (Voltamétrie)				80 nM	0,4 µM - 40 µM	Q. He, S. Yuan, C. Chen, S. Hu, Electrochemical properties of estradiol at glassy carbon electrode modified with nano-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> film. <i>Materials Science and Engineering: C</i> , 23, 2003, 621-625.
17β œstradiol	Nanotubes	Electrode de carbone modifiée	Electrochimique (Voltamétrie)				0,5 µM	0,5 µM - 15 µM	X. Lin, Y. Li, A sensitive determination of estrogens with a Pt nano-clusters/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 22, 2006, 253-259.
17β œstradiol	Nanotubes		Electrochimique (Voltamétrie)				60 nM	0,5 µM - 40 µM	X. Q. Liu, D. K.Y. Wong, Electrocatalytic detection of estradiol at a carbon nanotube   Ni (Cyclam) composite electrode fabricated based on a two-factorial design. <i>Analytica Chimica Acta</i> , 594, 2007, 184-191.
17β œstradiol	Nanotubes	Electrode de carbone modifiée	Electrochimique (Voltamétrie)				20 nM	0,1 µM - 30 µM	J. C. Song, J. Yang, X. M. Hu, Electrochemical determination of estradiol using a poly (L-serine) film-modified electrode. <i>Journal of Applied Electrochemistry</i> , 38, 2008, 833-836.
17β œstradiol	Nanotubes	Electrode de graphite modifiée par une technique "Layer by layer"	Electrochimique (Voltamétrie)				10 nM	70nM - 42 µM	G. G. Hao, D. Y. Zheng, T. A. Gan, C. G. Hu, S. S. Hu, Development and application of estradiol sensor based on layer-by-layer assembling technique. <i>Journal of Experimental Nanoscience</i> , 6, 2011, 13-28.
17β œstradiol	Récepteur membranaire à œstradiol	Electrode fonctionnalisée avec de l'or modifié (schéma ci-dessous)	Electrochimique (SWV)				1fM	1fM-1nM	Zhenzhong Guo. Development of electrochemical biosensors for environmental pollutant and food safety monitoring. <i>Analytical chemistry</i> . Université Claude Bernard - Lyon I, 2014. English. NNT : 2014LYO10044
17β œstradiol	Aptamère hybride associé à des nanotubes de TiO <sub>2</sub> modifiés avec des particules de CdSe		Photoélectrochimie			tests sur échantillons naturels (eaux médicales résiduelles, eau du robinet, lac)	fM		Fan L, Zhao G, Shi H, Liu M, Wang Y, Ke H: A femtomolar level and highly selective 17β-estradiol photoelectrochemical aptasensor applied in environmental water samples analysis. <i>Environ Sci Technol</i> 2014, 48:5754-5761.
Toutes molécules ayant une activité œstrogénique (œstradiol, bisphénol A, etc.)	Récepteur membranaire α à œstradiol exprimé à la surface d' <i>Escherichia coli</i>	Electrode fonctionnalisée avec une protéine ayant la propriété de se lier au récepteur α uniquement lorsque celui-ci est occupé (sandwich assay)	Electrochimique (Impédance)			méthode permettant de mesurer une activité œstrogénique dans des échantillons complexes	de l'ordre du fM		Furst AL., Hoepker AC., Francis MB. Quantifying Hormone Disruptors with an Engineered Bacterial Biosensor. <i>ACS Cent. Sci.</i> 2017, 3, 110-116. DOI: 10.1021/acscentsci.6b00322

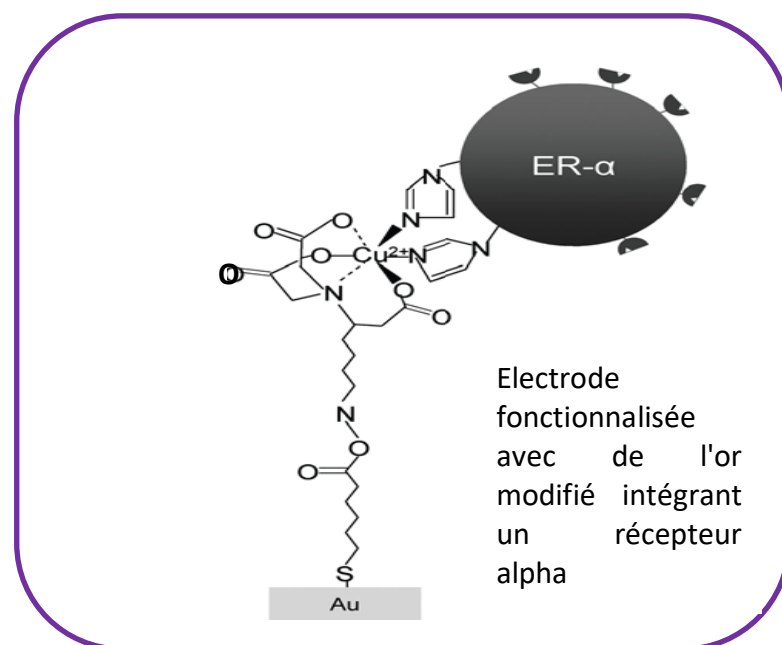


Tableau 10 : Autre méthode analytique disponible pour la détection du 17  $\beta$  oestradiol principalement

Méthode analytique commercialisée					
Molécules détectées	Nom commercial, usages	Principe technologique	Matrice	Commercialisation	Remarques
17 $\beta$ œstradiol	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits	Gamme de détection = 0,05-1 $\mu$ g/L (ppb) (cf mode d'emploi)	Eaux	Abraxis LLC Sales Department Northampton Center 54 Steamwhistle Drive Warminster, Pennsylvania, 18974 Phone: (215) 357-3911 Fax: (215) 357-5232 Email: info@abraxiskits.com WEB: www.abraxiskits.com	



Tableau 11 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du bisphénol A principalement

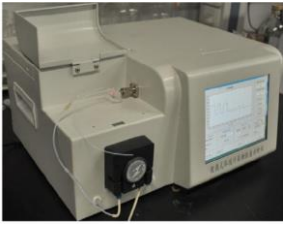
Travaux de recherche									
Molécule	Type de récepteur	Type de transducteur	Type de signal	Matrice	Stade de maturité technologique	Limite de détection	Gamme de détection	Références bibliographiques	Remarques/précisions (avantages et inconvénients)
Bisphenol A et composés phénolés	Enzymes (tyrosinase) fonctionnalisées avec différentes nanoparticules (Oxydes de Fe, nanoparticules d'Au et nanoparticules de Ni)	Electrochimique	Ampérométrique	Solution aqueuse	Bioessais	$8,3 \cdot 10^{-9}$ M (Oxydes de Fe) ; $1,1 \cdot 10^{-8}$ M (nanoparticules d'Au) ; $7,1 \cdot 10^{-9}$ M (nanoparticules de Ni)	$2,2 \cdot 10^{-8}$ - $4 \cdot 10^{-5}$ M (Oxydes de Fe) $4,2 \cdot 10^{-8}$ - $3,6 \cdot 10^{-5}$ M (nanoparticules d'Au) $9,1 \cdot 10^{-7}$ - $4,8 \cdot 10^{-5}$ M (nanoparticules de Ni)	Alkasir R. S. J., Ganesana M., Won Y-H., Stanciu L. and Andreescu S. Enzyme functionalized nanoparticles for electrochemical biosensors: A comparative study with applications for the detection of bisphenol A. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> 26 (2010) 43–49. doi:10.1016/j.bios.2010.05.001	Les électrodes fonctionnalisées avec des nanoparticules de Ni sont plus performantes que celles fonctionnalisées avec de l'oxyde de Fe ou de l'or. Elles permettent une détection du BPA de l'ordre du nanomolaire
Composés phénoliques dont le phénol, le Bisphenol A (BPA), le catechol et les crésols	Enzymes (tyrosinase) enchassées entre des couches alternées de chitosan et d'électrolytes, déposées sur une bandelette de papier	Optique : la réaction enzymatique entre la molécule cible et la tyrosinase produit une quinone qui se complexe avec le chitosan, ce qui induit un changement de couleur visible à l'oeil nu pouvant être optimisé par analyse d'image	Colorimétrique (mesure de l'intensité de la couleur)	Eaux (Eau du robinet, Eau de rivière)	Bioessais. La preuve de concept de la technologie, y compris sur des échantillons naturels et la technique de production de masse du récepteur sont acquises.	0,86 µg/L		Alkasir R. S. J., Ornatka M. and Andreescu S. Colorimetric Paper Bioassay for the Detection of Phenolic Compounds. <i>Anal. Chem.</i> 2012, 84, 9729–9737. dx.doi.org/10.1021/ac301110d	Cette technologie peut être facilement adaptée à d'autres polluants comme les COV, les phthalates ou les pesticides
Bisphenol A (BPA)	Enzyme (Tyrosinase enchassée entre des couches alternées de chitosan et d'électrolytes, déposées sur une bandelette de papier)	Optique : la réaction enzymatique entre le BPA et la tyrosinase produit une quinone qui se complexe avec le chitosan, ce qui induit un changement de couleur visible à l'oeil nu pouvant être optimisé par analyse d'image	Colorimétrique (mesure de l'intensité de la couleur)	Air intérieur, poussières	Biocapteur (appareil portable intégrant l'échantillonnage et l'analyse de BPA)	0,28 µg/g	0,05 - 3,87 µg/g	Alkasir R. S. J., Rossner A. and Andreescu S. Portable Colorimetric Paper-Based Biosensing Device for the Assessment of Bisphenol A in Indoor Dust. <i>Environ. Sci. Technol.</i> 2015, 49, 9889–9897. DOI: 10.1021/acs.est.5b01588	Perspective de couplage avec un téléphone portable pour l'appréciation de la couleur; Perspectives d'application à d'autres polluants comme les composés organiques volatiles (COV), les phthalates et les pesticides pour une meilleure appréciation du risque et des études épidémiologiques de grande ampleur
Bisphenol A (BPA)	Anticorps anti-BPA (extrait de sérum de bovin), immobilisés à la surface de la fibre optique (compétition entre le BPA de l'échantillon et les anticorps monoclonaux marqués dirigés contre les anticorps anti-BPA)	Fibre optique à champ évanescent couplée à une capsule microfluidique constituant une plateforme	Optique (Fluorescence)	Eau	Construction d'une plateforme transportable 	0,06 µg/L	0,5 - 100 µg/L	Long F., Zhu A., Zhou X., Wang H., Zhao Z., Liu L., Shi H. Highly sensitive and selective optofluidics-based immunosensor for rapid assessment of Bisphenol A leaching risk. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> 55(2014)19–25	Essais concluants pratiqués sur des échantillons d'eau contenus dans des bouteilles en polycarbonates chauffés. La plateforme permet ainsi de réaliser des analyses rapides (<15 min), reproductibles, sensibles, sur site, et ainsi d'apprécier le risque en temps réel lié à l'eau potable et aux aliments.
Bisphenol A (BPA)	Anticorps	Plateforme portable constituée de 6 canaux permettant une mesure optique par SPR	Optique (Résonance Plasmonique de Surface)	Eau		0,08 ng/ml (sur une solution saline tamponnée) 0,14 ng/ml (sur des eaux usées)	0,05 - 1 ng/ml	Hegnerová K., Piliarik M., Šteinhachová M., Flegelová Z., Černohorská H. et Homola J. Detection of bisphenol A using a novel surface plasmon resonance biosensor. <i>Anal Bioanal Chem</i> (2010) 398:1963–1966. DOI 10.1007/s00216-010-4067-z	La plateforme permet une détection plus sensible du BPA dans les eaux usées que les méthodes classiques (ELISA et HPLC). Ce biocapteur pourrait être employé pour des échantillons environnementaux.
Bisphenol A (BPA)	Aptamère	Electrochimique	Square wave voltametry (SWV) et Impedance spectroscopy (EIS)	Eau, aliments	La publication ne mentionne pas de tests sur échantillons naturels	$10^{-11}$ mol L <sup>-1</sup>	$10^{-11}$ à $10^{-6}$ mol L <sup>-1</sup>	Imen Kazane, Karine Gorgy, Chantal Gondran, Nicolas Spinelli, Ali Zazoua, E. Defrancq and Serge Cosnier. Highly Sensitive Bisphenol-A Electrochemical Aptasensor Based on Poly(Pyrrole-Nitrilotriacetic Acid)-Aptamer Film. <i>Anal. Chem.</i> 2016, 88, 7268–7273. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b01574	Sensibilité et spécificité élevées. Cette étude fait la preuve de concept de cet aptacapteur

Tableau 12 : Autres méthodes analytiques disponibles et commercialisées pour la détection du bisphénol A principalement

Méthode analytique commercialisée					
Molécules détectées	Nom commercial, usages	Principe technologique	Matrice	Commercialisation	Remarques
Bisphenol A (BPA)	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits) par la société ABRAXYS (USA)	Immunoessai. La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre (cf mode d'emploi); gamme de détection = 0,05-1µg/L (ppb)	Eaux	ABRAXIS (USA)	
Perturbateurs endocriniens	Bioessai réalisé par une plateforme de criblage (Plateforme Protéomique Imagerie et Interactions moléculaires (PP2I) pour le compte des industriels (agroalimentaire, gestionnaires d'eaux usées), des hopitaux,	Biorécepteur nucléaire (protéine qui se lie à l'ADN et qui induit la transcription d'un gène spécifique) associé à un transducteur de type Résonance Plasmonique de Surface (SPR)	Différentes matrices (eaux usées, aliments, sérum,...) avant extraction. Les échantillons doivent parvenir à la plate-forme sous forme d'un extraitEaux	Plateforme hébergée par l'Institut de Recherche Cancérologie de Montpellier (IRCM)	contact : patrick balaguer <Patrick.Balaguer@montpellier.unicancer.fr> Tel (33)-4 67 61 24 09 - Fax (33)-4 67 61 37 87



## 2. Le glyphosate et son principal métabolite l'AMPA

### a. Définition

Le glyphosate est un herbicide utilisé en agriculture et en situations non agricoles pour le contrôle d'une large gamme de mauvaises herbes.

Chimiquement, la substance active glyphosate (N-phosphonométhyl-glycine) est un dérivé de la glycine, le plus petit acide aminé trouvé dans les protéines. Dans la molécule de glyphosate, un des atomes d'hydrogène de la fonction amine de la glycine est remplacé par un groupement méthylphosphonique. Les végétaux absorbent le glyphosate par leurs feuilles et les autres parties vertes. La molécule se lie ensuite à l'enzyme *énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase* (EPSPS) située dans les chloroplastes et bloque son activité. La synthèse d'un précurseur des acides aminés aromatiques et, en définitive, d'hormones, de vitamines et autres métabolites essentiels à la croissance des végétaux s'en trouve ainsi inhibée (Minh et al. 2015).

### b. Origine

La molécule « glyphosate » a été brevetée par Monsanto au début des années 1970 comme substance active de l'herbicide Roundup®. Le Roundup a été commercialisé pour le grand public en 1974 comme herbicide à large spectre, devenant rapidement l'un des désherbants les plus vendus depuis 1980.

Depuis l'expiration de son brevet en 2000, le glyphosate a été commercialisé par diverses sociétés et plusieurs centaines de produits de protection des plantes contenant du glyphosate sont actuellement homologués en Europe pour être utilisés sur les terres cultivées. Dans certains pays européens, par exemple au Royaume-Uni et en Allemagne, les agriculteurs ont recours au glyphosate pour gérer jusqu'à 40 % des surfaces agricoles totales. Cette molécule représente environ 25% des parts de marché des herbicides.

### c. Aspects réglementaires

Fin juin 2016, la Commission européenne a décidé de prolonger l'autorisation du glyphosate, pour 18 mois, et de restreindre son utilisation (certains adjuvants sont interdits et des règles limitent son utilisation dans les parcs et les jardins publics), alors qu'il était question d'une reconduite pour 15 ans sans restriction. Ce revirement de la CE est lié à la mobilisation citoyenne et à la pression de divers organismes comme le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer), l'OMS (Organisation mondiale de la Santé), ou encore les ONG Greenpeace et Avaaz qui ont dénoncé des conflits d'intérêts avec des industriels... dont Monsanto, et renvoyé au rapport publié par l'OMS et le CIRC en mars 2015. Ce rapport concluait que le glyphosate est un «cancérogène probable pour l'homme et pour l'animal». Les effets sanitaires du glyphosate ont été réévalués par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) ou, plus précisément, le CER (comité scientifique composé d'experts désignés par les États membres de l'Union européenne et nommés par l'ECHA). Le 15 mars 2017, l'ECHA maintient la classification du glyphosate comme substance pouvant entraîner des lésions oculaires graves et ayant un effet toxique sur le long terme sur le milieu aquatique. Bien que classé, depuis le 20 mars 2015, comme « probablement cancérogène » par le Centre international de recherche sur le cancer, le glyphosate n'est donc pas considéré comme une substance carcinogène, mutagène ou toxique pour la reproduction au sens de la législation européenne ; ce qui est l'objet de polémiques.

### d. Les biocapteurs développés pour la détection du glyphosate

Il existe plusieurs méthodes standardisées pour la détection au laboratoire du glyphosate et de son principal métabolite, l'AMPA. Les échantillonneurs passifs actuellement développés et qui font l'objet de gros efforts de la part de l'AFB pour en faire des outils utilisés en routine pour l'évaluation des milieux aquatiques, ne permettent pas encore de retenir et donc de mesurer les molécules très polaires et hydrophiles comme le glyphosate et son métabolite l'AMPA. Ce verrou technique, tout comme la pression sociétale née des multiples polémiques concernant ce pesticide, renforcent

l'intérêt de développer un biocapteur ciblé sur la détection du glyphosate et de l'AMPA. Cependant, aucun projet concernant l'AMPA n'a été identifié et force est de constater que les méthodes développées pour la détection du glyphosate ne sont pas très nombreuses (Tableaux 13 et 14 ci-dessous).

Notons que la conception de polymères à empreinte moléculaire (MIP) spécifique du glyphosate peut être valorisée à la fois dans le développement d'un biocapteur (Minh et al. 2015) et dans celui d'un échantillonneur passif ciblé sur le glyphosate (Puzio et al. 2014).

Comme pour le 17 $\beta$  œstradiol et le Bisphénol A, un kit ELISA est commercialisé par la société ABRAXYS.

Tableau 13 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du glyphosate

Travaux de recherche									
Molécule	Type de récepteur	Type de transducteur	Type de signal	Matrice	Stade de maturité technologique	Limite de détection	Gamme de détection	Références bibliographiques	Remarques/précisions (avantages et inconvénients)
Glyphosate	Polymère à empreinte moléculaire obtenu par électropolymérisation de nanoparticules de p-aminothiophenol fonctionnalisées avec de l'or en présence de glyphosate	Electrochimique	Voltamétrie	Eaux (test sur l'eau du robinet)		0,8 µg/L	1 µg/L - 1 µg/L	Minh Huy D., A. Florea, A. Farre, A. Bonhomme, F. Bessueille, F. Vocanson, Nhu-Trang T-T., N. Jaffrezic-Renault. Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensor for the sensitive detection of glyphosate herbicide. International Journal of environmental analytical chemistry, 2015, 95(15): 1489-1501	
Glyphosate	Oligopeptide, TPFDLRPSSTR	SPR gold sensor chip	Résonance de plasmon de surface	Buffer solution	Test laboratoire	0.58 µM		Ding X., Yang KL. Development of an oligopeptide functionalized surface plasmon resonance biosensor for online detection of glyphosate. Anal Chem. 2013 Jun 18;85(12):5727-33	On reste loin du seuil réglementaire
Glyphosate	Atemoya peroxidase, enzyme, mesure de l'inhibition	Electrochimique	Voltamétrie	Phosphate buffer solution (pH 7.0) Test dans l'eau naturelle	Test laboratoire	30 µg L <sup>-1</sup> LOD non déterminée dans l'eau naturelle	0.10 and 4.55 mg L <sup>-1</sup> 0,2, 1 et 1,75 mg/l	Oliveira GC1, Mocellini SK, Castilho M, Terezo AJ, Possavatz J, Magalhães MR, Dores EF., Biosensor based on atemoya peroxidase immobilised on modified nanoclay for glyphosate biomonitoring. Talanta. 2012 Aug 30;98:130-6	On reste loin du seuil réglementaire
Glyphosate	Anticorps	Optique	Fluorescence		Test laboratoire	8 ng/mL	0.01-80 µg/mL	Wang D, Lin B, Cao Y, Guo M, Yu Y. A Highly Selective and Sensitive Fluorescence Detection Method of Glyphosate Based on an Immune Reaction Strategy of Carbon Dot Labeled Antibody and Antigen Magnetic Beads. J Agric Food Chem. 2016 Aug 3;64(30):6042-50	On reste loin du seuil réglementaire
Glyphosate	MIP	Optique	Chimiluminescence	En buffer	Plaque 96 puits	0.046 µg mL <sup>-1</sup>	0.5 µg mL <sup>-1</sup> à 35 µg mL <sup>-1</sup>	Zhao P, Yan M, Zhang C, Peng R, Ma D, Yu J. Determination of glyphosate in foodstuff by one novel chemiluminescence-molecular imprinting sensor. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2011 May;78(5):1482-6.	On reste loin du seuil réglementaire
Glyphosate	Inhibition de l'activité de l'HRP	Electrochimique	Voltamétrie	En buffer		1.70 µg L <sup>-1</sup>	0.25-14.0 µg L <sup>-1</sup>	Songa EA, Arotiba OA, Owino JH, Jahed N, Baker PG, Iwuoha EI. Electrochemical detection of glyphosate herbicide using horseradish peroxidase immobilized on sulfonated polymer matrix. Bioelectrochemistry. 2009 Jun;75(2):117-23.	Pas spécifique au glyphosate

Tableau 14 : Autre méthode analytique disponible et commercialisée pour la détection du glyphosate

Méthode analytique commercialisée					
Molécules détectées	Nom commercial, usages	Principe technologique	Matrice	Commercialisation	Remarques
Glyphosate	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits ou test avec particules magnétiques)	lim de détection = 50 ppt	Eaux, sol et aliments	ABRAXIS (USA)	Autres pesticides également détectables sur le même principe (cf glyphosate flyer)

### 3. Le mercure (Hg) et autres Éléments Traces Métalliques (EMT)

Certains métaux comme le plomb (Pb), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd) ne sont pas essentiels aux réactions biologiques. Au contraire, ils sont dangereux pour les organismes vivants même à faible concentration car ils favorisent la prolifération de radicaux libres. Le mercure est également considéré comme neurotoxique, génotoxique et tératogène. De plus, il est stocké dans des organes vitaux où il se lie avec des protéines et des enzymes contenant du soufre, ce qui perturbe leur fonctionnement et est à l'origine de plusieurs maladies (Liu et al. 2015).

Le cycle biogéochimique du mercure dans l'environnement est complexe et encore imparfaitement connu (Figure 32). Deux aspects d'importance sont néanmoins parfaitement identifiés. D'une part, le mercure subit un phénomène de bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire. Il peut donc être présent en grande concentration chez les prédateurs. Il a également la capacité d'être transporté par voie atmosphérique, de se condenser ou se volatiliser en fonction de la température, ce qui explique que les concentrations présentes dans l'environnement sont variables et ne sont pas directement liées aux sources d'émission.

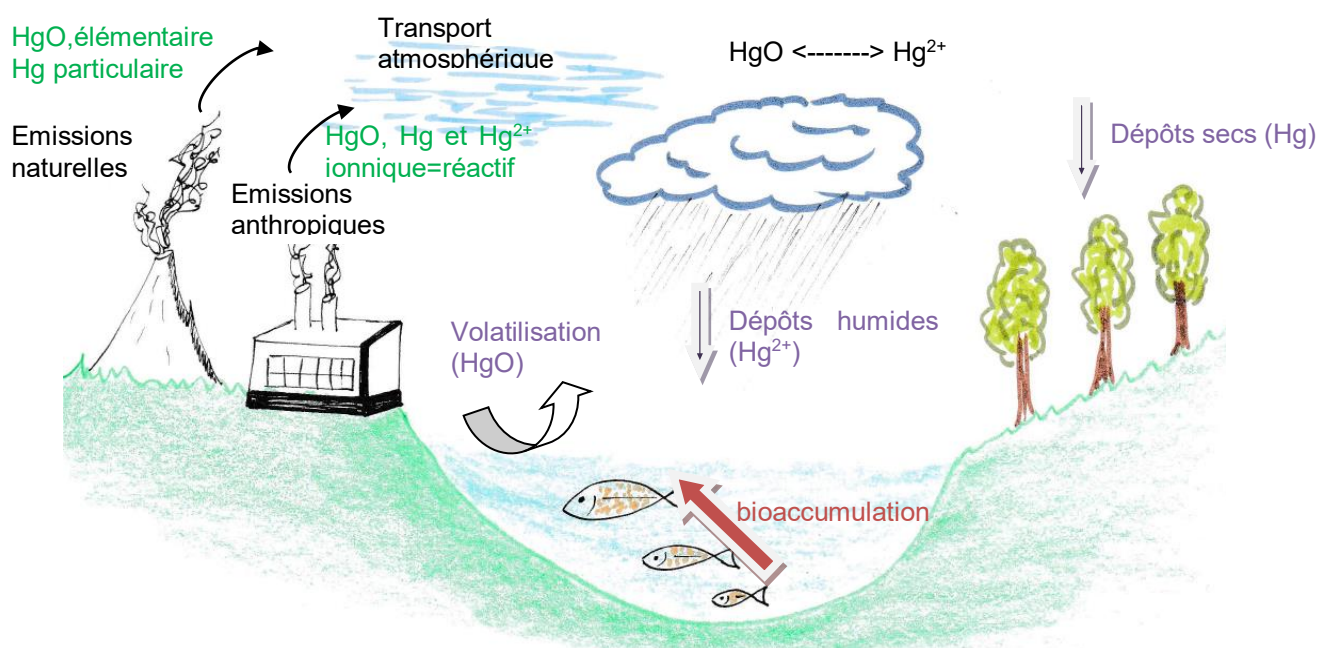


Figure 32 : Représentation schématique du cycle du mercure dans l'environnement

La contamination des écosystèmes par le mercure représente donc un enjeu de santé publique ce qui justifie la recherche de moyens de surveillance efficaces, rapides, sensibles, peu coûteux.

Le Tableau 15 ci-dessous reprend les principaux travaux conduits dans cet objectif et ayant fait l'objet de publications. Les Tableaux 16 et 17 concernent respectivement les produits déjà commercialisés et les projets en cours abordés au cours des entretiens.

Tableau 15 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection du mercure (et parfois d'autres ETM et polluants)

Travaux de recherche									
Molécule	Type de récepteur	Type de transducteur	Type de signal	Matrice	Stade de maturité technologique	Limite de détection	Gamme de détection	Références bibliographiques	Remarques/précisions (avantages et inconvénients)
Métaux	Algues immobilisées sur des électrodes par des couches autoassemblées (SAMs)	Conductimétrique (Mesure l'activité photosynthétique résiduelle par la mesure de l'inhibition de l'activité phosphatase qui est perturbée en présence de métaux)	Conductivité	Eaux (rejets de réservoir d'orage et eaux d'infiltration urbaines)	Preuve de concept			Gosset A., Y. Ferro, M. Perullini, M. Jobbagy, S. A. Bilmes, C. Durrieu. Des biocapteurs algues au service de la surveillance des milieux aquatiques vulnérables Algal biosensors for the monitoring of vulnerable water bodies. <a href="https://www.researchgate.net/publication/304622997_Des_biocapteurs_algues_au_service_de_la_surveillance_des_milieux_aquatiques_vulnerables">https://www.researchgate.net/publication/304622997_Des_biocapteurs_algues_au_service_de_la_surveillance_des_milieux_aquatiques_vulnerables</a>	Cette technologie pourrait fournir un bon outil d'alerte de la contamination par les métaux des rejets urbains
Mercure, hydroxydes d'ammonium et formaldéhyde	Bactéries bioluminescentes fixées dans une matrice d'alginate de calcium à la surface de la puce CMOS	Photodétecteur basé sur une technologie électronique (complémentaire métal-oxyde-semiconductors (CMOS))	Lumière	Eaux	Prototype et essais sur échantillons naturels contaminés par des ETM			T. Axelrod, E. Eltzov, R.S.Marks. Bioluminescent bioreporterpadbiosensorformonitoringwater toxicity. 2016. Talanta 149:290-297	Etude établissant la preuve de concept même si d'autres souches de bactéries bioluminescentes pourraient être tester notamment pour améliorer la spécificité de l'appareil.
Mercure en solution aqueuse (Hg <sup>2+</sup> )	Biorécepteur à ADN : Brin d'ADN enrichi en thymine immobilisé à la surface d'un composé nanoporeux d'oxyde de Cu et de nano-chitosan (Cu2O@NCs)	Signal électrochimique émis par l'hybridation de mercure et formation de complexe T-Hg2+-T. Le signal est détecté par spectroscopie à impédance (EIS)	Electrochimique (impédance)	Eaux	Preuve de concept	0.15 nmol L <sup>-1</sup>	1 to 100 nmol L <sup>-1</sup>	S. Liu, M.Kang, F. Yan, D.Peng, Y. Yang, L. He, M. Wang, S. Fang, Z. Zhang. Electrochemical DNA Biosensor Based on Microspheres of Cuprous Oxide and Nano-chitosan for Hg(II) Detection. 2015. Electrochimica Acta 160:64-73	
Mercure en solution aqueuse (Hg <sup>2+</sup> )	Biorécepteur à ADN : Brin d'ADN enrichi en thymine immobilisé à la surface d'un composé magnétique de CoFe2O4@Ag, lui-même enroulé autour d'un nanotube de carbone.	Un signal Raman est émis par le complexe CoFe2O4@Ag@ssDNA/nanotube de carbone. En présence de mercure, du fait de la très forte affinité du mercure pour la molécule de Thymine, un complexe T-Hg <sup>2+</sup> -T se forme, libérant les nanotubes de carbone ce qui affaiblit nettement le signal Raman. Le signal est détecté par la technologie SERS (Surface enhancement Raman spectrum) (cf schéma ce-dessous)	Optique	Eaux	Preuve de concept	0.84 pM	1 pM to 100 nM	X. Yang, Y. He, X. Wang, R. Yuan. A SERS biosensor with magnetic substrate CoFe2O4@Ag for sensitive detection of Hg <sup>2+</sup> . 2017. Applied Surface Science 416:571-586.	
Cd, Hg, Pb, 2,4-dinitrophenol, 2,4,6-trichlorophenol, and pentachlorophenol.	Cellules entières (culture d'hépatocytes humains en plaque 96 puits)	Signal électrochimique émis par la culture cellulaire et mesuré par spectroscopie à impédance (EIS) au moyen d'une électrode composée de nanotubes de carbone et de billes d'oxyde de graphène (2 autres électrodes composent le transducteur)	Electrochimique (impédance)	Eaux	Preuve de concept (Méthode plus sensible que la méthode traditionnelle au MTT, méthode colorimétrique permettant d'évaluer la viabilité des cellules au sein d'un échantillon)			X. Zhua, G. Wua, N. Lua, X. Yuana, B. Li. A miniaturized electrochemical toxicity biosensor based on grapheneoxide quantum dots/carboxylated carbon nanotubes for assessmentof priority pollutants. 2017. Journal of Hazardous Materials. 324:272-280	Ce bioessai permet de réaliser des tests cellulaires <i>in vitro</i> et ainsi d'évaluer la cytotoxicité d'échantillons environnementaux. Il pourrait être adapté pour un usage <i>in situ</i> et une surveillance non spécifique à large échelle.
Mercure en solution aqueuse (Hg <sup>2+</sup> )	Une sonde ADN, capable de s'hybrider avec un brin complémentaire d'ADN marqué et fluorescent, est fixée par liaison covalente à la surface d'une fibre optique. Le brin d'ADN contient aussi des molécules de thymine qui, en présence de mercure, se lient avec le mercure pour former des complexes T-Hg2+-T et ainsi provoquer le repliement en épingle à cheveux de la molécule d'ADN. Par un phénomène compétitif, la fluorescence diminue donc avec l'augmentation de la concentration en mercure.	Fibre optique	Optique	Eaux	Preuve de concept. Tests concluants sur échantillons naturels (eau du robinet, eau en bouteille et effluent tertiaire de station d'épuration)		0 to 6 µM	F. Long, C. Gao, H.C. Shi, M. He, A.N. Zhu, A.M. Klibanov, A.Z. Gu. Reusable evanescent wave DNA biosensor for rapid, highly sensitive, and selective detection of mercury ions. 2011. Biosensors and Bioelectronics 26:4018-4023	Méthode rapide, sensible, spécifique, reproductible (jusqu'à 100 analyses sans perte de performance). Cette méthode peut être utilisée pour la surveillance <i>in situ</i> de contamination par le mercure, d'autres ETM et même d'autres micropolluants en modifiant d'autres brins d'ADN ou des aptamers.
Mercure en solution aqueuse (Hg <sup>2+</sup> )	Une sonde ADN ayant une configuration spatiale en épingle à cheveux, emprisonnant ainsi le site de fixation d'une endonucléase (enzyme de restriction) ayant la capacité de n'agir que sur un seul brin ADN (NEase) est fixée à la surface d'une électrode d'or. En présence de mercure et du brin d'ADN complémentaire, ce dernier s'hybride à la sonde ADN pour former une double hélice d'ADN intégrant des complexes T-Hg2+-T, libérant ainsi le site de fixation de la NEase et permettant la réaction enzymatique, ce qui produit des brins d'ADNc et du mercure. Le cycle peut donc se poursuivre et amplifier la réaction initiale. Cette réaction en chaîne est mise en évidence par l'ajout de sondes marquées au bleu de méthylène qui ont la capacité de se fixer aux sondes ADN initiale après la réaction enzymatique.	Le signal électrochimique lié à la réduction du bleu de méthylène est mesuré par voltamétrie cyclique (CV), voltamétrie à onde carrée (SWV) et spectroscopie à impédance (EIS) au moyen de 3 électrodes (une électrode d'or modifiée, une électrode de référence Ag/AgCl et une électrode circulaire de platine)	Electrochimique (impédance)	Eaux	Preuve de concept. Tests concluants sur échantillons naturels (eau du robinet et eau d'un lac après filtration sur une membrane de 22 µm e dilution avec de l'acide nitrique)	1.6 pM	10 pM to 50 nM	M. Hong, M. Wang, J. Wang, X. Xu, Z. Lin. Ultrasensitive and selective electrochemical biosensor for detection of mercury (II) ions by nicking endonuclease-assisted target recycling and hybridization chain reaction signal amplification. 2017. Biosensors and Bioelectronics 94:19-23	Méthode sensible, spécifique, reproductible (sur 10 réplicats), utilisable pour la surveillance <i>in situ</i> de contamination par le mercure.
Mercure en solution aqueuse (Hg <sup>2+</sup> )	Cellules entières d' <i>Escherichia coli</i> génétiquement modifiée (son génome inclut le gène merR responsable de la résistance au mercure d'une autre bactérie : <i>Serratia marcescens</i> associé avec une séquence opérateur/promoteur également responsable de l'expression du gène <i>gfp</i> ). La présence de mercure entraîne l'expression du gène <i>gfp</i> et la synthèse de la protéine fluorescente. Le gène merR est responsable de la stabilité et de la précision du biocapteur.	Fluorescence	Optique	Eaux	Preuve de concept sur échantillons de laboratoire		100-1700 nmol/L	H. Priyadarshi, A. Alam, P. Gireesh-Babu, R. Das, P.Kishore, S. Kumar, A. Chaudhari. A GFP-based bacterial biosensor with chromosomally integrated sensing cassette for quantitative detection of Hg(II) in environment. 2012. Journal of Environmental Sciences 24(5):963-968	

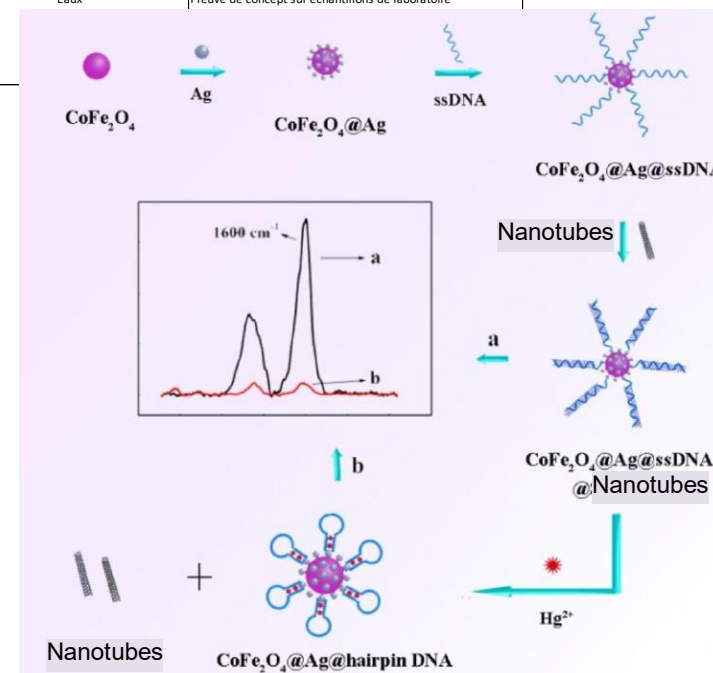


Figure 33 : Schéma représentant le principe du biocapteur basé sur un composé magnétique de CoFe2O4@Ag enroulé autour de nanotubes de carbone

Tableau 16 : Autre biocapteur disponible et commercialisé pour la détection d'EMT

Méthode analytique commercialisée					
Molécules détectées	Nom commercial, usages	Principe technologique	Matrice	Commercialisation	Remarques
Hg, Cr et aussi hydrocarbures, Pesticides (Dichlorvos, Carbaryl, Parathion, Paraquat, Atrazine, Diuron), Neurotoxins (Phenol) + Blooms algaux	AquaSentinel®	Mesure de la fluorescence naturelle des algues présentes dans l'échantillon, elle-même corrélée avec l'activité photosynthétique des algues. Le profil d'altération observé est comparé à de nombreux profils bancaisés, ce qui permet de détecter la présence d'un perturbateur voire de l'identifier. L'échantillon est conservé en vue de son analyse en cas de détection de toxique.	Eau et cendre de charbon	SecureWaters North-America (USA) et SecureWaters EMEA (The Netherlands) : <a href="http://www.securewatersinc.com/aquasentinel_watersecuritysensor/">http://www.securewatersinc.com/aquasentinel_watersecuritysensor/</a>	Gestionnaires de réseau interligés (Smart cities), municipalité, industriels

Tableau 17 : Autres biocapteurs en cours de développement pour la détection d'EMT

Projets					
Molécules détectées	Stade de maturité	Principe technologique	Matrice	Organisme concepteur	Remarques
Développement en cours de capteurs pour les ETM (prototype à l'horizon fin 2017) et de biocapteurs pour les petites molécules (pesticides et médicaments) à un stade TRL plus faible (prototype en 2021).	Technologie en cours de développement (TRL 6)	Immunocapteurs (nanobodies) électrochimiques	Eau	Société KLEARIA (entretien Mr Clément Nanteuil)	Le marché visé est celui de l'eau potable : détection de molécules cibles, représentative d'un groupe de micropolluants et du bassin versant concerné
Le laboratoire a déjà développé des biorécepteurs fonctionnels spécifiques pour plusieurs ETM : Hg, Zn, Cd, Co, Ni et aussi des biorécepteurs à plus large spectre (il suffit qu'une voie génétique ait été identifiée) ainsi qu'un biodétecteur de toxicité globale.	Projet Life + environnement déposé	Sur la base des acquis du projet COMBITOX relatifs au conditionnement, la lyophilisation des bactéries, la calibration de leur réponse, ce projet propose de développer un appareil mobile facile à utiliser pour une surveillance par un opérateur qui assurerait le prélèvement, l'incubation, la mise en lecture et la télétransmission des résultats. Cet appareil serait plus un outil d'alerte (mesure semi-quantitative). Les biorécepteurs sont des biorécepteurs à cellules (bactériennes) entières, génétiquement modifiées et qui émettent de la fluorescence dès qu'une voie génétique est activée par la présence d'un toxique. Le laboratoire a aussi développé des biocapteurs capables d'émettre de la fluorescence dans l'infrarouge et donc d'être employés dans les eaux turbides.	Eau	Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire DRF/BIAM ; UMR7265 CNRS/CEA/Université Aix-Marseille CEA Cadarache Bat 156, 13108 Saint Paul lez Durance, France (entretien Mr David PIGNOL)	



## 4. Les hydrocarbures, les composés chlorés et phénolés

### a. Définition

**Les hydrocarbures** sont des composés organiques composés de carbone et d'hydrogène. Il en existe de nombreuses molécules, habituellement classées selon la structure de leur molécule :

- Les alcanes, hydrocarbures saturés comme le méthane, le butane, l'hexane...et leurs isomères
- Les cycloalcanes
- Les alcènes, hydrocarbures insaturés comme l'éthène, le butadiène,...
- Les alcyne, hydrocarbures fortement insaturés comme l'éthyne (anciennement acétylène),
- Les aromatiques, hydrocarbures fortement insaturés comme le benzène, le méthylbenzène ou toluène, le vinylbenzène ou le styrène, le TriNitroToluène ou TNT.



Parmi les hydrocarbures aromatiques, on distingue les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui contiennent au moins deux cycles aromatiques condensés ce qui leur confère des propriétés et une toxicité particulières. Ils sont répertoriés en tant que polluants organiques persistants (POP) dans le protocole d'Aarhus.



Les phtalates sont également composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates.

Certains hydrocarbures sont halogénés (ex : trichlorobutane, fluoropentane, trichloroéthylène, chlorure de vinyle ou chloroéthène) et ont des propriétés qui leur confèrent un intérêt industriel (insecticides, solvants, résines, silicones,...).

Les polymères d'hydrocarbures sont souvent utilisés en tant que revêtement (polychloroéthène ou PVC, polystyrène, polytétrafluoroéthène utilisé par la marque Tefal) ou matériau textile (polypropène, polyacrylonitrile).

**Le phénol** est un alcool, composé d'un radical OH fixé sur une molécule de benzène. Les composés phénolés (alkylphénols, chlorophénol, nitrophénol, hydroquinone, catéchol,...) entrent dans la composition de nombreux produits industriels comme les pesticides, plastifiants, résines, adhésifs, durcisseurs, etc. À travers les rejets d'effluents industriels ou de déchets ménagers, ils contaminent souvent les masses d'eau naturelles où ils deviennent toxiques pour la santé humaine et les écosystèmes. Ils peuvent être aussi présents dans les sols.



**Les Polychlorobiphényle (PCB) et Polychlorotriphényle (PCT)** sont des composés organiques composés de 2 ou 3 anneaux de phénol et d'un nombre variable d'atomes de chlore. Ils sont utilisés pour leur grande stabilité thermique et leurs caractéristiques électriques. Ils sont notamment employés comme isolants électriques pour les transformateurs et les condensateurs (pyralène) ou fluides caloporteurs pour le transfert de calories dans des installations industrielles diverses. Après leur apparition dans les années 50, ces produits se sont avérés rapidement nocifs pour l'homme et l'environnement et classés comme tel. Ils sont insolubles dans l'eau mais solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles végétales, stables et pratiquement pas biodégradables sauf à haute température ce qui conduit à la formation de furanes et de dioxines (produits toxiques et cancérigènes). Enfin ils sont bioaccumulables.

([https://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire\\_environnement/definition.php4](https://www.actu-environnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition.php4))

**Ils sont considérés comme des polluants organiques persistants (POP).**



Les **polyphénols** sont des composés naturels, bien connus pour leurs propriétés antioxydantes. Les méthodes traditionnelles d'analyse de ces composés sont chronophages, coûteuses, nécessitent l'emploi de personnel qualifié et parfois la mise en œuvre d'étapes de préconcentration et d'extraction qui sont autant de sources d'erreurs (Diaconu, Litescu, and Radu 2010).

**Que ce soit dans un objectif de surveillance de l'environnement ou pour des raisons industrielles, dans le cas des polyphénols notamment, le développement de biocapteurs pour**



la détection et la mesure des composés chlorés, phénolés et des hydrocarbures présente un intérêt certain.

b. Les biocapteurs développés pour la détection des composés phénolés (Karim and Fakhruddin 2012)

- **Des biocapteurs microbiens** (bactéries, levures) souvent associés à un transducteur ampérométrique ont été employés dans la conception de biocapteurs pour la détection de composés phénolés.
- Cependant, ce sont les **biocapteurs enzymatiques** qui sont les plus fréquemment développés du fait de la spécificité des enzymes disponibles, qui peut, de plus, être améliorée par génie génétique. La stabilité des enzymes, quant à elle, peut être améliorée par diverses techniques de fixation des enzymes dans des matrices ou à la surface de microorganismes. Sanchez-Paniagua López, López-Cabarcos, and López-Ruiz (2012) ont comparés quatre biocapteurs ampérométriques basés sur la tyrosinase pour la détection de composés phénolés. Ils ont montré que la nature (organique ou inorganique) de la matrice dans laquelle étaient fixées les enzymes pouvait influencer la performance des biocapteurs, notamment leur sensibilité.  
  
Les biocapteurs enzymatiques peuvent intégrer deux enzymes, permettant ainsi la détection de plusieurs composés phénolés en même temps.
- Des immunocapteurs ont pu être conçus suite à la synthèse d'anticorps monoclonaux et recombinants.

Le Tableau 18 ci-dessous reprend quelques exemples de travaux menés dans le but de concevoir des biocapteurs pour la détection de composés phénolés tandis que le Tableau 19, page suivante, concerne des produits et méthodes commercialisés pour la détection de composés phénolés et chlorés bien que ce ne soient pas des biocapteurs.

Tableau 18 : Biocapteurs, développés jusqu'à un stade de maturité technologique élevé mais non commercialisés, pour la détection de composés phénolés

Travaux de recherche									
Molécule	Type de récepteur	Type de transducteur	Type de signal	Matrice	Stade de maturité technologique	Limite de détection	Gamme de détection	Références bibliographiques	Remarques/précisions (avantages et inconvénients)
Bisphénol A et composés phénolés	Enzymes (tyrosinase) fonctionnalisées avec différentes nanoparticules (Oxydes de Fe, nanoparticules d'Or et nanoparticules de Ni)	Electrochimique	Ampérométrique	Solution aqueuse	Bioessais	8,3.10 <sup>-9</sup> M (Oxydes de Fe) ; 1.10 <sup>-8</sup> M (nanoparticules d'Or) ; 7,1.10 <sup>-9</sup> M (nanoparticules de Ni)	2,2.10 <sup>-8</sup> - 4.10 <sup>-5</sup> M (Oxydes de Fe) ; 4,2.10 <sup>-8</sup> - 3,6.10 <sup>-5</sup> M (nanoparticules d'Or) ; 9,1.10 <sup>-7</sup> - 4,8.10 <sup>-5</sup> M (nanoparticules de Ni)	Alkasir R. S. J., Ganesana M., Won Y-H., Stanciu L. and Andreescu S. Enzyme functionalized nanoparticles for electrochemical biosensors: A comparative study with applications for the detection of bisphenol A. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> 26 (2010) 43-49. doi:10.1016/j.bios.2010.05.001	Les électrodes fonctionnalisées avec des nanoparticules de Ni sont plus performantes que celles fonctionnalisées avec de l'oxyde de Fe ou de l'or. Elles permettent une détection du BPA de l'ordre du nanoMolaire
Composés phénolés dont le phénol, le Bisphenol A (BPA), le catechol et les crésols	Enzymes (tyrosinase) enchassées entre des couches alternées de chitosan et d'électrolytes, déposées sur une bandelette de papier	Optique (la réaction enzymatique entre la molécule cible et la tyrosinase produit une quinone qui se complexe avec le chitosan, ce qui induit un changement de couleur visible à l'oeil nu ou optimisé par analyse d'image)	Colorimétrique (mesure de l'intensité de la couleur)	Eaux (Eau du robinet, Eau de rivière)	Bioessais (preuve de concept de la technologie, y compris sur des échantillons naturels et technique de production de masse du récepteur sont acquis)	0.86 µg/L		Alkasir R. S. J., Ormatska M. and Andreescu S. Colorimetric Paper Bioassay for the Detection of Phenolic Compounds. <i>Anal. Chem.</i> 2012, 84, 9729-9737. dx.doi.org/10.1021/ac301110d	Cette technologie peut être facilement adaptée à d'autres polluants comme les COV, les phthalates ou les pesticides
Phénol	Enzymes (tyrosinase) enchassées dans une matrice de nanotubes de carbone et de glutaraldéhyde	Electrochimique	Ampérométrique	Eau de mer	Preuve de concept	0,14 10 <sup>-6</sup> M		Alarcón G., Guix M, Ambrosi A, Ramirez Silva MT, Palomar Pardave ME, Merkoçi A. Stable and sensitive flow-through monitoring of phenol using a carbon nanotube based screen printed biosensor. <i>2010. Nanotechnology</i> 21(24):245502.	Cette technologie peut être adaptée à d'autres enzymes pour la détection d'autres polluants
Hydroquinone	Cellules entières (culture de cellules V79 de mammifères). La croissance et la capacité d'attachement de ces cellules est inversement proportionnelle à la dose d'hydroquinone présente.	Différence de potentiel mesurée par une électrode d'or (électrode de référence Ag/AgCl)	Electrochimique		Preuve de concept. Ces travaux ont également montré que l'exposition des cellules à de faibles doses d'hydroquinone pendant 15h les rendant plus adaptables et résistantes à de fortes doses d'hydroquinone.			Y. Wanga, Q. Chenb, X. Zengc. Potentiometric biosensor for studying hydroquinone cytotoxicity <i>in vitro</i> . 2010. <i>Biosensors and Bioelectronics</i> 25:1356-1362	Ce bioessais permet de réaliser des tests cellulaires de cytotoxicité ---- très sensibles. Il pourrait aussi être adapté pour un usage <i>in situ</i> et une surveillance environnementale.
Cd, Hg, Pb, 2,4-dinitrophenol, 2,4,6-trichlorophenol, et pentachlorophenol.	Cellules entières (culture d'hépatocytes humains en plaque 96 puits)	Signal électrochimique émis par la culture cellulaire et mesuré par spectroscopie à impédance (EIS) au moyen d'une électrode composée de nanotubes de carbone et de billes d'oxyde de graphène (2 autres électrodes composent le transducteur)	Electrochimique (impédance)	Eaux	Preuve de concept (Méthode plus sensible que la méthode traditionnelle au MTT, méthode colorimétrique permettant d'évaluer la viabilité des cellules au sein d'un échantillon)			X. Zhua, G. Wua, N. Lua, X. Yuana, B. Li. A miniaturized electrochemical toxicity biosensor based on grapheneoxide quantum dots/carboxylated carbon nanotubes for assessment of priority pollutants. 2017. <i>Journal of Hazardous Materials.</i> 324:272-280	Ce bioessais permet de réaliser des tests cellulaires ---- et ainsi d'évaluer la cytotoxicité d'échantillons environnementaux. Il pourrait être adapté pour un usage <i>in situ</i> et une surveillance non spécifique à large échelle.

Tableau 19 : Autres méthodes analytiques disponibles et commercialisées pour la détection de composés phénolés et chlorés

Méthode analytique commercialisée					
Molécules détectées	Nom commercial, usages	Principe technologique	Matrice	Commercialisation	Remarques
Alkylphénol	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Gamme de détection 5-500 µg/L	Eau	ABRAXIS (USA)	
Benzo(a)Pyrene	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Limite de détection = 0,30 ppb (µg/L)	Eau	ABRAXIS (USA)	
Coplanar Polychlorinated Biphenyls (PCBs)	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Gamme de détection 25-1000 ppt	eau (sous-terraines, surface et captage); possiblement d'autres matrices	ABRAXIS (USA)	
Higher chlorinated Polychlorinated Biphenyls (PCBs)	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Limite de détection ~ 0,2 ng/mL	Eau et sols (après extraction)	ABRAXIS (USA)	
Lower chlorinated Polychlorinated Biphenyls (PCBs)	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Limite de détection = 5ppb	Eau et sols (après extraction)	ABRAXIS (USA)	
Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE)	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Limite de détection = 0,03ppb	Eau et sols (après extraction)	ABRAXIS (USA)	
Phtalates	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Limite de détection = 30ppb	Eaux de surface	ABRAXIS (USA)	
Triclosan (ou 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol) et Méthyl-triclosan	Test ELISA commercialisé sous forme de Kits (plaques 96 puits). La lecture des résultats nécessite l'usage d'un spectrophotomètre	Gamme de détection 0,02-2,5 ppb	Eau et sols (après extraction)	ABRAXIS (USA)	
Solvants chlorés légers (perchloréthylène par exemple)	Méthode développées au cours du projet SILPHES (Solutions Innovantes de Lutte contre les Produits Halogénés dans les Eaux souterraines), financé par l'ADEME	Méthode de prélèvement et d'analyse de la lignine des arbres permettant de mesurer la concentration en solvants chlorés légers. Les quantités mesurées sont le reflet de la contamination des nappes phréatiques (David Cazaux, com. pers.). Il s'agit d'un outil d'alerte plus que de monitoring compte-tenu de la précision des mesures.	Eaux souterraines	La technologie est pratiquement mûre. Elle sera mise en œuvre par le bureau d'étude TAUW France ( <a href="http://www.tauw.fr/">http://www.tauw.fr/</a> )	

## IX. Bilan et Perspectives

### 1. Bilan

Les avantages et inconvénients de la technologie ainsi que les opportunités qui pourraient la porter et les menaces qui, au contraire, pourraient la freiner sont synthétisés dans le Tableau 20 ci-dessous. Bien que parfois extrapolables à d'autres domaines d'application, nous avons analysé ces critères essentiellement dans le cadre d'un usage environnemental.

Tableau 20 : Analyse AFOM concernant les biocapteurs à usage environnemental

Atouts	Faiblesses
Economique à l'achat autant qu'à l'entretien	Par comparaison aux biocapteurs à usages médicaux, la spécificité et la fiabilité des biocapteurs à usages environnementaux se heurtent souvent à la variabilité et la complexité des échantillons naturels
Autonome et économe énergétiquement	Reproductibilité souvent moindre que les méthodes analytiques traditionnelles
Usage en continu	Faible durée de vie
Télétransmission des résultats possible	Usage <i>in situ</i> impossible pour les biocapteurs intégrant des organismes génétiquement modifiés
Usage <i>in situ</i>	
Sensible et spécifique	
Pas ou peu de maintenance	Durée de conservation limitée et conditions de stockage parfois strictes
Compact (faible encombrement), mobile	
Ne nécessite pas de personnel qualifié	
Outil d'alerte multi-paramètres (biocapteurs d'effet)	Nombre limité de composés détectables
Prise en compte des cocktails de molécules	
Meilleur reflet de la biodisponibilité des molécules analysées et de leur toxicité sur les organismes vivants. Notamment prise en compte du rôle de la machinerie cellulaire par les biocapteurs à cellule entière.	
Opportunités	Menaces
Réglementation (Obligation de surveillance des milieux récepteurs et de l'environnement)	Réglementation (l'interdiction d'une molécule jugée trop toxique rend souvent le biocapteur développé pour sa détection caduque sauf en cas de très forte rémanence)
Fort engouement lié au développement de nombreux projets dans le domaine de la santé et plus modestement dans celui de l'agroalimentaire	Le marché de l'environnement est un marché porté essentiellement par les obligations réglementaires et apparaît comme moins porteur que les marchés de la santé et de l'agro-alimentaire
Prise de conscience de l'augmentation sans fin du nombre de molécules toxiques à rechercher	Pas toujours de solution de dépollution, l'usage d'un outil de détection/mesure rapide n'a alors pas d'intérêt
Prise de conscience de l'importance des effets cocktails	Levées de fonds difficiles compte tenu du temps de développement long des biocapteurs appliqués à l'environnement
Prise de conscience de la diversité des territoires et de la nécessité d'adapter la surveillance	
Demande sociétale croissante concernant la surveillance de l'environnement (naturel, urbain, bâtiments)	

## 2.Perspectives

Les entretiens et l'ensemble des recherches menés au cours de cette étude révèlent que le domaine de la recherche sur les biocapteurs est dynamique depuis 20 à 30 ans. Cependant les marchés les plus porteurs concernent très nettement les secteurs de la santé et de l'agro-alimentaire. Le marché de l'environnement ne semble pas réellement au rendez-vous ce qui explique le peu de transferts industriels observés. En effet, de nombreuses questions demeurent qui compliquent la prise de décision et pénalisent l'investissement et le transfert industriel pour un usage environnemental :

- Quels sont les molécules qui représentent le marché le plus porteur ? Quels sont celles qui risquent d'être interdites ? Comment prioriser les projets ?
- Quels sont les verrous techniques ? Comment évaluer le risque d'échec et leur impact sur le temps de développement d'un projet ?
- Quels sont les réels avantages de ces technologies par rapport aux autres méthodes ?
- Comment va évoluer la réglementation ? Comment anticiper les évolutions réglementaires en prenant en compte le temps de développement d'un biocapteur.

Néanmoins, les perspectives de développement des biocapteurs existent et concernent essentiellement 3 axes : les molécules cibles, les matrices cibles, et surtout les nouvelles technologies et approches.

### a. Les molécules cible

La mise sur le marché de nouvelles molécules peut favoriser et justifier le développement de biocapteurs, technologies particulièrement adaptées à leur mesure. C'est par exemple le cas des néonicotinoïdes qui ont une forte affinité pour le récepteur à l'acétylcholine nicotinique des insectes. Celui-ci pourrait être utilisé comme biorécepteur dans la conception d'un biocapteur ciblé sur les néonicotinoïdes.

Les molécules initialement ciblées pour le développement de biocapteurs ou d'autres méthodes analytiques étaient sélectionnées essentiellement parce qu'elles présentaient un risque pour la santé humaine et/ou qu'elles étaient largement employées. Actuellement, font aussi l'objet de développement expérimentaux les biocapteurs visant des molécules présentant un risque pour l'environnement comme les régulateurs de croissance des insectes et autres biopesticides, les pesticides microbiens ou les plantes génétiquement modifiées pour produire leurs propres pesticides (Plant-incorporated protectants ou PIPs).

La liste des molécules d'intérêt s'avère sans fin et il apparaît que les analyses individuelles traditionnelles, bien que sensibles, spécifiques et robustes, ne peuvent répondre à tous les besoins. Outre leur coût, leur limite vient de ce qu'elles ne rendent pas compte des impacts sur les organismes vivants des molécules présentes dans l'échantillon et encore moins des molécules non recherchées comme les métabolites. De même, elles ne permettent pas de révéler des effets cocktails. Au contraire, les biocapteurs apparaissent comme des outils pertinents permettant de mieux sélectionner et prioriser les échantillons qui méritent d'être analysés par des méthodes traditionnelles plus robustes.

### b. Les matrices cible

La majorité des biocapteurs développés concerne la matrice « eau ». Toutefois, de gros efforts de développement doivent être menés pour commercialiser ces produits, et aussi pour poursuivre les développements, en particulier en milieu marin où des biocapteurs ont été développés principalement pour la détection de nitrates et de nitrite, aussi pour celle de microorganismes ou de toxines algales, mais encore peu pour la détection de polluants (pesticides, ETM) (Mehrotra 2016).

Malgré les difficultés techniques inhérentes aux matrices air et solide, les besoins sont identiques et le développement de biocapteurs adaptés à ces matrices présenterait les mêmes avantages que ceux dédiés à un usage dans l'eau, en permettant le criblage des sites les plus pollués, la prise en compte des effets toxiques et des effets cocktail des échantillons.

### C. Les nouvelles technologies

La conception d'un biocapteur nécessite une recherche interdisciplinaire associée aux semi-conducteurs, à l'optique et/ou à la biochimie (ainsi qu'à d'autres domaines selon les cas d'applications comme la micro/nano électronique, la chimie des surfaces, la biologie moléculaire, l'électrochimie, la chimie des matériaux, ou encore la microfluidique, le traitement du signal, la chimométrie, la chimie analytique...). Chaque développement d'innovation dans un domaine impactera la conception de biocapteurs (Rivollet et Serre, 2015). Il s'agit donc d'un secteur potentiellement très dynamique et en perpétuelle évolution.

L'utilisation de nanomatériaux<sup>6</sup> et, plus généralement, le recours aux nanotechnologies ouvrent de nouvelles perspectives pour la fabrication de biocapteurs de nouvelle génération aux propriétés mécaniques, électrochimiques, optiques et magnétiques améliorées (Hassani et al. 2017). Cela nécessite aussi de mieux comprendre les interactions entre biomolécules et nanomatériaux (Mehrotra 2016).

La combinaison de plusieurs types de biorécepteurs (DNAzymes et aptamers) peut également offrir des capacités et applications nouvelles (Bazin 2017)

Les techniques d'analyses de données comme les réseaux de neurones artificiels ou les nouvelles techniques informatiques de calcul (approches computationnelles) sont très prometteuses, notamment quand elles sont couplées aux technologies impliquées dans la conception ou l'utilisation de biocapteurs. À titre d'exemple, les approches computationnelles permettent de balayer et de hiérarchiser toutes les conformations possibles d'aptamers candidats à la conception d'un biorécepteur et donc de choisir le meilleur. Les limites de détection obtenues par un biocapteur ainsi conçu sont nettement améliorées (Hassani et al. 2017).

---

<sup>6</sup> Nanotubes de carbones, nanoparticules métalliques (Au, Ag), graphène et ses nanocomposites, polymères, points quantiques, nanoparticules magnétiques.

## CONCLUSION

Les biocapteurs constituent une technologie en constante et rapide évolution qui concerne autant les aspects techniques que les usages. L'avenir de la technologie est donc dépendant de l'équilibre entre ses limites, sans cesse repoussées, et ses atouts de plus en plus concrets, diversifiés et cohérents avec la demande sociétale. C'est certainement une explication du paradoxe observé : les produits commercialisés et utilisés en routine sont encore rares malgré l'abondance et le dynamisme des recherches menées.



## BIBLIOGRAPHIE

- Alkasi, R.S.J., M. Ornatska, and S. Andreescu. 2012. "Colorimetric Paper Bioassay for the Detection of Phenolic Compounds." *Anal. Chem.* 84: 9729–37. doi:dx.doi.org/10.1021/ac301110d.
- Amaro, Francisco, Aaron P. Turkewitz, Ana Martin-Gonzalez, and Juan-Carlos Gutierrez. 2011. "Whole-Cell Biosensors for Detection of Heavy Metal Ions in Environmental Samples Based on Metallothionein Promoters from *Tetrahymena Thermophila*." *Microbial Biotechnology* 4 (4): 513–22. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00252.x.
- Anca, florea, Cecilia Cristea, Francis Vocanson, and Nicole Jaffrezic-Renault. 2015. "Electrochemical Sensor for the Detection of Estradiol Based Onelectropolymerized Molecularly Imprinted Polythioanilinefilm Withsignal Amplification Using Gold Nanoparticles." *Electrochemistry Communications* 59: 36–39.
- Andreescu, Silvana, John Njagi, Cristina Ispas, and Matthew T. Ravalli. 2009. "JEM Spotlight: Applications of Advanced Nanomaterials for Environmental Monitoring." *J. Environ. Monit.* 11 (1): 27–40. doi:10.1039/B811063H.
- Asif, Shazia, Aparna Chaudhari, P. Gireesh-Babu, Partha Roy Chaudhuri, and Ramkrishna Sen. 2016. "Immobilization of Fluorescent Whole Cell Biosensors for the Improved Detection of Heavy Metal Pollutants Present in Aquatic Environment." In *Materials Today Proceedings*, 3:3492–97.
- Badihi-Mossberg, Michal, Virginia Buchner, and Judith Rishpon. 2007. "Electrochemical Biosensors for Pollutants in the Environment." *Electroanalysis* 19 (19–20): 2015–28. doi:10.1002/elan.200703946.
- Bahadır, Elif Burcu, and Mustafa Kemal Sezgintürk. 2015. "Applications of Commercial Biosensors in Clinical, Food, Environmental, and Biothreat/Biowarfare Analyses." *Analytical Biochemistry* 478 (June): 107–20. doi:10.1016/j.ab.2015.03.011.
- Bazin, Ingrid, Scherrine A. Tria, Akhtar Hayat, and Jean-Louis Marty. 2017. "New Biorecognition Molecules in Biosensors for the Detection of Toxins." *Biosensors and Bioelectronics* 87 (January): 285–98. doi:10.1016/j.bios.2016.06.083.
- Durrieu, Claude. 2014. *Détection de Pesticides Dans Le Milieu Aquatique Au Moyen D'algues Encapsulées Dans Un Hydrogel de Silice*. <http://www.manioc.org/fichiers/V14251>.
- Fuchs, Yannick, Olivier Soppera, Andrew G. Mayes, and Karsten Haupt. 2013. "Holographic Molecularly Imprinted Polymers for Label-Free Chemical Sensing." *Advanced Materials* 25 (4): 566–570. doi:10.1002/adma.201203204.
- Glatz, R., and K. Bailey-Hill. 2011. "Mimicking Nature's Noses: From Receptor Deorphaning to Olfactory Biosensing." *Progress in Neurobiology* 93 (2): 270–96. doi:10.1016/j.pneurobio.2010.11.004.
- Gosset, Antoine, Yannis Ferro, and Claude Durrieu. 2015. "Methods for evaluating the pollution impact of urban wet weather discharges on biocenosis: a review." *Water Research*, November. doi:DOI: 10.1016/j.watres.2015.11.020.
- Hassan, Sedky H.A., Steven W. Van Ginkel, Mohamed A.M. Hussein, Romany Abskharon, and Sang-Eun Oh. 2016a. "Toxicity Assessment Using Different Bioassays and Microbial Biosensors." *Environment International* 92–93 (July): 106–18. doi:10.1016/j.envint.2016.03.003.
- . 2016b. "Toxicity Assessment Using Different Bioassays and Microbial Biosensors." *Environment International* 92–93 (July): 106–18. doi:10.1016/j.envint.2016.03.003.
- Hassani, S., S. Momtaz, F. Vakhshiteh, A.S. Maghsoudi, M.R. Ganjali, P. Norouzi, and M. Abdollahi. 2017. "Biosensors and Their Applications in Detection of Organophosphorus Pesticides in the Environment." *Archives of Toxicology* 91 (1): 109–30. doi:10.1007/s00204-016-1875-8.
- Jarque, Sergio, Michal Bittner, Ludek Blaha, and Klara Hilscherova. n.d. "Yeast Biosensors for Detection of Environmental Pollutants: Current State and Limitations." *Trends in Biotechnology* 34 (5): 408–19. doi:10.1016/j.tibtech.2016.01.007.
- Liu, Shaoqin, Zhaozhu Zheng, and Xinyu Li. 2013. "Advances in Pesticide Biosensors: Current Status, Challenges, and Future Perspectives." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (1): 63–90. doi:10.1007/s00216-012-6299-6.
- Mehrotra, Parikha. 2016. "Biosensors and Their Applications – A Review." *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 6 (2): 153–59. doi:10.1016/j.jobcr.2015.12.002.
- Saidur, M.R., A.R. Abdul Aziz, and W.J. Basirun. 2017. "Recent Advances in DNA-Based Electrochemical Biosensors for Heavy Metal Ion Detection: A Review." *Biosensors and Bioelectronics* 90 (April): 125–39. doi:10.1016/j.bios.2016.11.039.

- Agnan, Yannick. 2013. "Bioaccumulation et Bioindication Par Les Lichens de La Pollution Atmosphérique Actuelle et Passée En Métaux et En Azote En France : Sources, Mécanismes et Facteurs D'influence." Université de Toulouse. <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00002607/01/agnan.pdf>.
- Ait-Aissa, Selim. 2009. "Outils bio-analytiques in vitro : principe et apports pour la surveillance des contaminants organiques dans le milieu aquatique." Rapport d'étude DRC-08-95306-16732A. INERIS. [http://www.ineris.fr/centredoc/R\\_08\\_16732A\\_Action28\\_final.pdf](http://www.ineris.fr/centredoc/R_08_16732A_Action28_final.pdf).
- Aït-Aïssa, Sélim, and Nicolas Creusot. 2014. "Validation de La Mesure de L'activité Œstrogénique Dans Les Matrices Environnementales – Revue Bibliographique." Rapport AQUAREF DRC-15-136927-12327A. Thème G « Méthodes et Technologies Innovantes » / Action G3b « Outils Bio-Analytiques ».
- Arini, A, G Daffe, P Gonzalez, A Feurtet-Mazel, and Magalie Baudrimont. 2014. "What Are the Outcomes of an Industrial Remediation on a Metal-Impacted Hydrosystem? A 2-Year Field Biomonitoring of the Filter-Feeding Bivalve *Corbicula Fluminea*." *Chemosphere* 108:214–24.
- Bahadır, Elif Burcu, and Mustafa Kemal Sezgintürk. 2015. "Applications of Commercial Biosensors in Clinical, Food, Environmental, and Biothreat/Biowarfare Analyses." *Analytical Biochemistry* 478 (June):107–20. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.03.011>.
- Baillon, Lucie, F. Pierron, R. Coudret, E. Normandeau, A. Caron, L. Peluhet, P. Labadie, et al. 2015. "Transcriptome Profile Analysis Reveals Specific Signatures of Pollutants in Atlantic Eels." *Ecotoxicology* 24 (1):71–84.
- . 2016. "Detecting the Exposure to Cd and PCBs by Means of a Non-Invasive Transcriptomic Approach in Laboratory and Wild Contaminated European Eels (*Anguilla Anguilla*)." *Environ Sci Pollut Res.* 23 (6):5431–41. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5754-2>.
- Diaconu, Mirela, Simona Carmen Litescu, and Gabriel Lucian Radu. 2010. "Laccase–MWCNT–chitosan biosensor—A New Tool for Total Polyphenolic Content Evaluation from in Vitro Cultivated Plants." *Sensors and Actuators B: Chemical* 145 (2):800–806. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.01.064>.
- Glatz, R., and K. Bailey-Hill. 2011. "Mimicking Nature's Noses: From Receptor Deorphaning to Olfactory Biosensing." *Progress in Neurobiology* 93 (2):270–96. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.11.004>.
- Hook, S.E., A.D. Skillman, J.A. Small, and I.R. Schultz. 2006. "Gene Expression Patterns in Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*, Exposed to a Suite of Model Toxicants." *Aquat. Toxicol.* 77:372–385.
- Karim, F., and A.N.M. Fakhruddin. 2012. "Recent Advances in the Development of Biosensor for Phenol: A Review." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 11 (3):261–74. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9268-9>.
- Ketep, Françoise. 2012. "Piles À Combustible Microbiennes Pour La Production D'électricité Couplée Au Traitement Des Eaux de L'industrie Papetière." Université de Grenoble. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00872058>.
- Lagadic, Laurent, Thierry Caquet, François Ramade, and Jean-Claude Amiard. 1997. *Les Biomarqueurs En Écotoxicologie*. ELSEVIER / MASSON.
- Liu, Shunli, Mengmeng Kang, Fufeng Yan, Donglai Peng, Yanqin Yang, Linghao He, Minghua Wang, Shaoming Fang, and Zhihong Zhang. 2015. "Electrochemical DNA Biosensor Based on Microspheres of Cuprous Oxide and Nano-Chitosan for Hg(II) Detection." *Electrochimica Acta* 160 (April):64–73. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.02.030>.
- Mehrotra, Parikha. 2016. "Biosensors and Their Applications – A Review." *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 6 (2):153–59. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.12.002>.
- Minh, Hui Do, florea Anca, Carole Farre, Anne Bonhomme, François Bessueille, Francis Vocanson, Nhu-Trang Tran-Thi, and Nicole Jaffrezic-Renault. 2015. "Molecularly Imprinted Polymer-Based Electrochemical Sensor for the Sensitive Detection of Glyphosate Herbicide." *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95 (15):1489–1501.
- Monkawa, Akira, Tomoko Gessei, Yuki Takimoto, Nobuaki Jo, Toshiaki Wada, and Nobuyuki Sanari. 2015. "Highly Sensitive and Rapid Gas Biosensor for Formaldehyde Based on an Enzymatic Cycling System." *Sensors and Actuators B: Chemical* 210 (April):241–47. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.148>.
- Owen, J., B.Y. Hedley, C. Svendsen, J. Wren, M.J. Jonker, P.K. Hankard, L.J. Lister, et al. 2008. "Transcriptome Profiling of Developmental and Xenobiotic Responses in a Keystone Soil Animal, the Oligochaete Annelid *Lumbricus Rubellus*." *BMC Genomics* 9:266.
- Poynton, H.C., A.V. Loguinov, J.R. Varshavky, S. Chan, E.J. Perkins, and C.D. Vulpe. 2008. "Gene Expression Profiling in *Daphnia Magna* Part I: Concentration-Dependent Profiles Provide Support for the No Observed Transcriptional Effect Level." *Environ. Sci. Technol.* 42:6250–6256.

- Poynton, H.C., J.R. Varshavky, B Chang, P.S. Holman, A.V. Loguimov, D.J. Bauer, K. Komachi, et al. 2007. "Daphnia Magna Ecotoxicogenomics Provides Mechanistic Insights into Metal Toxicity." *Environ. Sci. Technol.*, no. 41:1044–50.
- Poynton, H.C., R. Zuzow, A.V. Loguinov, E.J. Perkins, and C.D. Vulpe. 2008. "Gene Expression Profiling in Daphnia Magna, Part II: Validation of a Copper Specific Gene Expression Signature with Effluent from Two Copper Mines in California." *Environ. Sci. Technol.* 42:6257–6263.
- "Proceedings 3ème Rencontres Nationales de La Recherche Sur Les Sites & Sols Pollués." 2014. Paris: ADEME.
- [http://www.rencontres-recherche-ssp.ademe.fr/?IdNode=12283&CurrentNode=12283&Lang=FR&KM\\_Session=5c7b222924578a7cc3d744c2664b3091](http://www.rencontres-recherche-ssp.ademe.fr/?IdNode=12283&CurrentNode=12283&Lang=FR&KM_Session=5c7b222924578a7cc3d744c2664b3091).
- Puzio, K., B. Claude, L. Amalric, C. Berhob, E. Grelletb, S. Bayouhd, R. Nehmé, and Ph Morin. 2014. "Molecularly Imprinted Polymer Dedicated to the Extraction of Glyphosate in Natural Waters." *J. Chromatogr. A.* //dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.043.
- Sanchez-Paniagua López, M., E. López-Cabarcos, and B. López-Ruiz. 2012. "Influence of the Host Matrix of the Enzyme in the Performance of Amperometric Biosensors." *Sensors and Actuators B: Chemical* 171–172 (August):387–97. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.04.074>.
- Sankaran, Sindhuja, Lav R. Khot, and Suranjan Panigrahi. 2012. "Biology and Applications of Olfactory Sensing System: A Review." *Sensors and Actuators B: Chemical* 171–172 (August):1–17. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.03.029>.
- Smith, M.B., A.M. Rocha, C.S. Smillie, S.W. Olesen, C. Paradis, L. Wu, J.H. Campbell, et al. 2015. "Natural Bacterial Communities Serve as Quantitative Geochemical Biosensors." *mBio* 6 (3):1–13. <https://doi.org/10.1128/mBio.00326-15>.
- Tecon, Robin, and Jan Roelof van der Meer. 2008. "Bacterial Biosensors for Measuring Availability of Environmental Pollutants." *Sensors* 8 (7):4062–80. <https://doi.org/10.3390/s8074062>.
- Toba, F.A., and A.G. Hay. 2005. "A Simple Solid Phase Assay for the Detection of 2,4-D in Soil." *J. Microbiol. Meth.* 2:135–43.

## ANNEXES

## **Annexe 1**

## Liste des personnes interrogées de vive voix ou par téléphone

Nom	Organisme			Coordonnées
<b>Organismes impliqués dans l'innovation et/ou la gestion de la qualité des milieux</b>				
François Straub	AFB et AQUAREF	entretien téléphonique		
Olivier Perceval	AFB	entretien téléphonique		
Estérelle Villemagne	AFB	entretien téléphonique et en présentielle		
Wilfried Sanchez	Fondation Rovaltain	Entretien avec Julie Carimalo		
Laure Huguenot	AXELERA	conversation à la faveur du colloque Atmos'Fair (10 &11 octobre 2017)	04 28 27 04 84	
Nathalie Guigues	LNE	entretien téléphonique	01 40 43 37 01 07 78 34 80 44	<a href="mailto:nathalie.guigues@lne.fr">nathalie.guigues@lne.fr</a>
France Bailly	Cnrt Nickel en NC	échanges par mail		<a href="mailto:france.bailly@cnrt.nc">france.bailly@cnrt.nc</a>
Céline Léger	ATMO Normandie	conversation à la faveur du colloque Atmos'Fair (10 &11 octobre 2017)		
Frank Karg	HPC International SAS	conversation à la faveur du colloque Atmos'Fair (10 &11 octobre 2017)		
<b>Concepteurs - Développeurs privés</b>				
Nadine Dumoutier	Cirsee, Suez	entretien téléphonique	01 34 80 23 45	
Laurent Paulic	TRONICO-VIGICELL	entretien téléphonique		
Olivier Sibourg	ENOVEO	entretien téléphonique et en présentielle		
Delphine Guillebault	MICROBIA	entretien téléphonique et en présentielle		
Hélène Cérémonie	ELISOL	entretien téléphonique		
Clément Nanteuil	KLEARIA	entretien téléphonique	01 69 63 61 25	<a href="mailto:clement.nanteuil@klearia.com">clement.nanteuil@klearia.com</a>
Tristan Rousselle et Fanny Turlure	Aryballe Technologies	entretien téléphonique	04 38 78 03 99	<a href="mailto:fanny@aryballe.com">fanny@aryballe.com</a> ; <a href="mailto:tristan@aryballe.com">tristan@aryballe.com</a>
Guillaume Jubeaux et Laurent Viviani	Biomae	entretien téléphonique		
Claire Trocquet	In'Air Solutions	conversation à la faveur du colloque Atmos'Fair (10 &11 octobre 2017)		
Sébastien Kaskassian	Tauw France	entretien téléphonique		

Organismes de recherche académique (publics ou EPIC)				
Laurence Salomé	IPBS - Université de Toulouse	entretien téléphonique		
Silvana Andreescu	Clarkson University	échanges par mail		<a href="mailto:eandrees@clarkson.edu">eandrees@clarkson.edu</a>
Ingrid BAZIN	LGEI - Ecole Mines d'Ales Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel Equipe Eau, Systèmes Anthropique et Hydrosystèmes			
Claude DURRIEU	ENTPE- Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat/Université de Lyon 1	entretien téléphonique	04 72 04 71 68 ;	<a href="mailto:Claude.Durrieu@entpe.fr">Claude.Durrieu@entpe.fr</a>
Loïc BLUM	ICBMS - UMR 5246, UCB/ CNRS/ INSA Lyon/ ESCPE Lyon Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires	entretien téléphonique	04 72 43 13 97	<a href="mailto:loic.blum@univ-lyon1.fr">loic.blum@univ-lyon1.fr</a>
Patrick BALAGUER	INSERM U1194 - Plateforme CMT - Equipe Signalisation Hormonale et Cancer	entretien téléphonique	04 67 61 24 09	<a href="mailto:Patrick.Balaguer@montpellier.unicancer.fr">Patrick.Balaguer@montpellier.unicancer.fr</a>
Nicole JAFFREZIC	ISA - UMR CNRS/ UCB/ ENS Lyon Institut des Sciences Analytiques	entretien téléphonique		
Jean-Louis MARTY	LBBM (ex EA IMAgES)- USR 3579 CNRS/UPMC Laboratoire de biodiversité et biotechnologies microbiennes	entretien téléphonique	04 68 66 22 54	
Yves LEVI	ESE - Univ Paris Sud -Chatenay Malabry Laboratoire d'Ecologie, Systématique et Evolution	entretien téléphonique	01 46 83 53 66	<a href="mailto:yves.levi@u-psud.fr">yves.levi@u-psud.fr</a>
David PIGNOL	Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire CEA - Centre d'étude nucléaire de Cadarache	entretien téléphonique	04 42 25 30 60	<a href="mailto:david.pignol@cea.fr">david.pignol@cea.fr</a>
Carmen Palacio	CRIOBE - USR 3278, EPHE/ CNRS/ UPVD (ex LCBE) Centre de Recherche Insulaires et Observatoire de l'Environnement	entretien téléphonique		
Utilisateurs potentiels				
Anne-Marie Charissou	LECES	entretien téléphonique	06 20 35 35 17	<a href="mailto:anne-marie.charissou@leces.fr">anne-marie.charissou@leces.fr</a>
Philippe Le Louers	LECES	entretien téléphonique		



**Structures publiques ou privées qui ont pour activité de recherche de concevoir des biocapteurs ou des bioessais appliqués à l'environnement**

	Nom de la structure	Public/ Privé	Contact	Adresse	Type de biocapteur conçu (cellulaire/affinité/enzymatique)	Cible	Type
Produits commercialisés	AquaMS	Privé	18 Rue Blaise Pascal, Parc d'activité St-Jacques 1, 54320 Maxéville Tél : 03 83 49 54 72	Maxéville	Organismes ( <i>Apterionotus albifrons</i> )	Tout polluant susceptible d'entraîner une modification physico-chimique de l'eau	Biocapteur (Gymnotox)
	Amatronic	Privé	IFETURA-eu département ARNATRONIC - Rue du Mad - 54530 ARNAVILLE (France) Tél. +33 (0)3 83 80 02 02 Fax +33 (0)3 83 81 74 30 amatronic@ifetura.com	Arnaville	Cellulaire (Algues)	Herbicides	Biocapteur (Fluotox)
	BioMonitor	Privé	BioMonitor 25 rue Anatole France 54530 Pagny sur Moselle contact@biomonitor.fr Tél : 03.83.80.25.90 Fax : 03.83.80.25.91	Pagny-sur-Moselle	Organismes (bryophytes, lichens, graminées, légumes)	Métaux lourds, HAP, dioxines, furannes dans l'air	Biomonitoring actif et passif
	CIFEC	Privé	CIFEC, 12 bis rue du Cdt Pilot, F92200 NEUILLYS/SEINE. Tél : 33(0)1 4640 4949, Fax 33 (0) 1 4640 0087, Email : infor@cifec.fr, Web : www.cifec.fr	Neuilly sur Seine	Organismes (Truite ou vairon)	Toxicité globale	Bioessais <i>in situ</i> (TRUITEL)
	Enoveo	Privé	Olivier SIBOURG	Lyon	Cellulaire (biocapteur microbien)	pollution globale, DBO, Produits toxiques	Biocapteur
	Fluidion	Privé	Dan ANGELESCU	Créteil	Détection optique des bactéries poréentes, après incubation, dans l'échantillon prélevé	Pathogènes ( <i>Escherichia coli</i> et coliformes totaux)	Laboratoire d'analyse microbiologique mobile
	Kallistem	Privé	Philippe DURAND	ENS Lyon	Cellulaire	Perturbateurs endocriniens, les métaux lourds, les résidus médicamenteux, les pesticides,...	Bioessais (Bio-Alter® : Culture Cellulaire Testiculaire en 3D)
Produit en cours de développement, accès au marché proche	Klearia	Privé	Clément NANTEUIL	C2N, Marcoussis	Lab on chip	Détection de polluants organiques et inorganiques (micropolluants, pesticides, médicaments) dans les eaux	Biocapteur
Produits commercialisés	LIBIOS	Privé	Boutros KERBAJE	Pontcharra Sur Turdine (69)	Kit de diagnostic (type ELISA) adaptés à une utilisation sur le terrain ou en laboratoire	Contaminants organiques, PCB, dioxines	Développement et commercialisation de kits de diagnostic
	Microbia Environnement	Privé	Carmem-Lara DE OLIVEIRA MANES	Banyuls sur mer	Affinité (Acides nucléiques)	Détection précoce d'algues toxiques en milieu marin	Bioessais
	PredTox	Privé	Marc AUDEBERT	INRA Toulouse	Cellulaire (cellules humaines)	Génotoxicité et cytotoxicité	Bioessais
Prestation de service : Mise en œuvre de tests écotoxicologiques	Provademse (plateforme d'innovation technologique d'INSAVALOR, la filiale de valorisation de l'INSA de Lyon)	Privé		Villeurbanne	Cellulaire / organismes	Toxicité globale, herbicides	Bioessais
	Toxem	Privé	Jérôme COUTEAU	Université du Havre	Cellulaire (test d'écotoxicité sur larves d'huîtres creuses (embryo-larvaire) afin d'évaluer la toxicité de sédiments ou d'échantillons d'eau selon la norme XP T 90-382 ) Organismes (test d'écotoxicité sur larves d'huîtres creuses (embryo-larvaire) afin d'évaluer la toxicité de sédiments ou d'échantillons d'eau selon la norme XP T 90-382 )	Toxicité globale, génotoxicité	Bioessais
	Tronico-Vigicell (ALCEN)	Privé	Yann PICHOT	La Roche sur Yon 85000	Cellulaire	Toxicité globale, génotoxicité, cytotoxicité et reprotoxicité	Bioessais <i>in situ</i> et au laboratoire

	Nom de la structure	Public/ Privé	Contact	Adresse	Type de biocapteur conçu (cellulaire/affinité/enzymatique)	Cible	Type
Produits commercialisés	<b>Biomae</b>	Privé		Villeurbanne	Organismes (gammare) exposés <i>in situ</i>	Toxicité globale, génotoxicité, cytotoxicité et reprotoxicité	Bioessais <i>in situ</i>
	<b>Watchfrog</b>	Privé	Gregory LEMKINE	Evry	Organismes (Larves de batraciens et de poissons) génétiquement modifiées	Perturbateurs endocriniens essentiellement	Bioessais et biocapteurs
	<b>Viewpoint</b> (Conception et commercialisation d'équipement de laboratoire)	Privé		Lyon	Organismes ( <i>Danio rerio</i> , gammare,...)	Analyse des perturbations comportementales (mouvement, fréquence cardiaque,...) dans le cadre de la recherche (pharmaceutique)	Bioessais
	<b>Anova Plus</b>	Privé		Evry	Affinité (ADN)	Détection des pathogènes des végétaux, des gènes VAT (Valeur Agronomique et Technologique), des mutations génétiques, des OGMs	Bioessais et tests ADN de terrain (domaine agroalimentaire)
	<b>GTP technology</b> (production de protéines recombinantes et d'anticorps monoclonaux pour la recherche)	Privé	GTP Technology Bâtiment Gould - 52, l'Occitane 31670 Labège Cedex - France Tel: +33 (0)5 61 28 70 20	Labège			Production d'enzymes, d'antigènes, d'anticorps, de peptides
	<b>Biosentec</b>	Privé		Auzeville-Tolosane	Kits enzymatiques	Acides organiques, alcools, allergènes,...	kits enzymatiques (domaine agroalimentaire)
	<b>ICMN</b> - UMR 7374 CNRS/ Université Orléans Interfaces Confinement, Matériaux et nanostructures	Public	Christine VAUTRIN-UL	Orléans	Intégration des carbones dans des systèmes ou procédés : Développement et optimisation de systèmes ou de procédés relevant des applications environnementales, à la fois la dépollution et la détection des polluants dans des milieux aqueux (eaux naturelles, eaux de rejets industriels, eaux d'entrée de station d'épuration...).	Les projets de recherche menés dans le cadre de ces applications environnementales visent tout particulièrement les polluants prioritaires (fixée par la Directive Cadre Européenne) et émergents (résidus de médicaments, hormones).	Amélioration des procédés
	<b>LGEI</b> - Ecole Mines d'Alès Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel Equipe Eau, Systèmes Anthropique et Hydrosystèmes	Public	Ingrid BAZIN/ Catherine GONZALES	Ecole des Mines d'Alès	Cellulaire et affinité (développement de biocapteurs mixtes)	Herbicides, toxines (plus généralement, les molécules de petites taille)	Bioessais et biocapteurs (Projet COMBITOX)
	<b>LIEC</b> - UMR 7360, CNRS/ Université de Lorraine Laboratoire Interdisciplinaire des Environnement Continentaux Écotoxicité Santé Environnementale	Public	Pascale BAUDA/ Christian MUSTIN	Vandoeuvre-Lès-Nancy	Cellulaire (bactéries OGM)		Bioessais
	<b>ENTPE</b> - Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat	Public	Claude DURRIEU		Cellulaire (algues)	Herbicides	Bioessais
	<b>ICBMS</b> - UMR 5246, UCB/ CNRS/ INSA Lyon/ ESCPE Lyon Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires	Public	Loïc BLUM	Lyon	Affinité		Bioessais et biocapteurs
Prestation de service : Mise en œuvre de tests écotoxicologiques	<b>INSERM U1194</b> - Plateforme CMT - Equipe Signalisation Hormonale et Cancer	Public	Patrick BALAGUER	IRCM Montpellier	Cellulaire	Perturbateurs endocriniens	Bioessais
	<b>ISA</b> - UMR CNRS/ UCB/ ENS Lyon Institut des Sciences Analytiques	Public	Nicole JAFFREZIC / Florence LAGARDE	Lyon	Enzymatique / cellulaire		Biocapteurs jetables à usage médical maintenant
	<b>Laboratoire de chimie des milieux aquatiques</b> - IRSTEA	Public	Marina COQUERY / Jeanne GARRIC	Lyon	Cellulaire	Toxiques génotoxiques	Bioessais (cf projet ECHIBIOTEB - ANR 2011)
	<b>Laboratoire d'écotoxicologie</b> - IRSTEA	Public	Olivier GEFFARD	Lyon	Organisme		
	<b>EMHA</b> - IRSTEA Ecologie Microbienne des Hydrosystèmes Anthropisés	Public	Stéphane PESCE	Villeurbanne	Micro-organismes	Pollution globale	bio-indication ? <a href="http://www.irstea.fr/toutes-les-actualites/departement-eaux/pollution-eaux-bioindicateurs-microbienne-methode-pict">http://www.irstea.fr/toutes-les-actualites/departement-eaux/pollution-eaux-bioindicateurs-microbienne-methode-pict</a>
	<b>Laboratoire d'immunologie - Microbiologie</b> (IUT Thionville-Yutz)	Public	J. FALLA (Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC) – UMR UL/CNRS 7360 Tél : +33(0)3.72.74.98.12 Fax : +33(0)3.72.74.98.01 Mail : jairo.falla@univ-lorraine.fr	Thionville	Biocapteur basé sur la réponse cellulaire de l'immunité innée d'insectes pollinisateurs et de l'Homme (mobilité des macrophages)	Biosurveillance de la qualité de l'air (polluants atmosphériques, et plus particulièrement des produits phytosanitaires)	Bioessais et biocapteurs
	<b>MAPIEM</b> - EA 4323- Université de Toulon Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin	Public	Hugues BRISSET	Université de Toulon, La Garde	MIPs	Métaux lourds, antifouling (surveillance du milieu marin)	Bioessais et biocapteurs

Nom de la structure	Public /Privé	Contact	Adresse	Type de biocapteur conçu	Cible	Type
LPA - INRA Laboratoire de Pollution Atmosphérique	Public	Jean pierre GARREC	Nancy	Indicateurs de pollution	Ozone, métaux lourds , COV	Bioessais
GEPEA - UMR6144 CNRS/ Univ Nantes/ Oniris Nantes/ Institut Mines Telecom Laboratoire de Génie des Procédés Environnement - Agroalimentaire Labcom RIMAE	Public	Gérald THOUAND	Université de Nantes-IUT La Roche sur Yon	Cellulaire	Métaux, Toxicité, organométalliques, pesticides, pathogènes	Bioessais et biocapteurs
LBBM (ex EA IMAgES)- USR 3579 CNRS/UPMC Laboratoire de biodiversité et biotechnologies microbiennes	Public	Jean-Louis MARTY, Carole CALAS-BLANCHARD, Lise BARTHELMEBS	UPVD- Perpignan	Enzymatique et affinité	Pesticides essentiellement comme les herbicides tricétones (projet TRICETOX)	Bioessais et biocapteurs
ESE - Univ Paris Sud -Chatenay Malabry Laboratoire d'Ecologie, Systématique et Evolution	Public	Yves LEVI	Paris Sud	Cellulaire	Perturbateurs endocriniens	Bioessais
Université de Limoges	Public	<a href="https://www.unilim.fr/recherche/structure-de-la-recherche/">https://www.unilim.fr/recherche/structure-de-la-recherche/</a>	Limoges	Cellulaire		Bioessais
Vet'agro sup	Public			Cellulaire	Pathogènes	Bioessais
DCM - UMR5250- CNRS/ UGA Département de Chimie Moléculaire	Public	Serge COSNIER / Alan LE GOFF	Grenoble	Affinité/ Enzymatique		
ERE - UMR 7221, CNRS/ MNHN evolution des Régulations Endocriniennes	Public	Barbara DEMENEIX	Paris	Organismes	Perturbateurs endocriniens	
PASTEUR - UMR 8640, CNRS/ ENS/ UPMC Laboratoire Processus d'Activation par Transfert d'Energie	Public	Fabien JOUX/ François-Yves BOUGET	Banyuls sur mer	Cellulaire (micro-algues OGM)		
CRPP- CNRS/ Univ. Bordeaux Centre de Recherche Paul Pascal	Public	Nicolas MANO	Bordeaux	Enzymatique		
LBDV- UMR 7009 CNRS/ UPMC Laboratoire de Biologie du Développement de Villefranche-sur-Mer	Public	Clare HUDSON	Villefranche-sur-Mer	Organismes (oeufs d'ascidies fluorescents)	Toxines	
UMR Agroécologie - INRA	Public	Muriel DEQUAIRE-ROCHELET	Dijon	Cellulaire (bactéries antibiorésistantes)	Antibiorésistance	
EPOC - UMR 5805 CNRS/ UGA Environnements et paléoenvironnement océaniques et continentaux	Public	Jean-Charles MASSABUAU	Bordeaux	Organismes (mollusques bivalves)	Toxines	
Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire CEA - Centre d'étude nucléaire de Cadarache	EPIC	David PIGNOL	Saint-paul-lez-Durance	Cellulaire (bactéries génétiquement modifiées intégrant la luciférase )	Métaux (Hg, Zn, Cd, Co, Ni), Toxicité globale	Bioessais et biocapteurs (Projet COMBITOX)
IMS - UMR 5218, CNRS/ Bordeaux INP/ Univ. Bordeaux Laboratoire d'Intégration du matériau au Système	Public	Corinne DEJOURS	Bordeaux	Cellulaire		
IATE - UMR INRA/ CIRAD/ UM2/ SupAgro Ingénierie des Agro-polymères et Technologies Emergentes	Public	Carole GUILLAUME	Montpellier	Biopolymère		
ICMMO- UMR8182 - CNRS/ UPSud Institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay	Public	Hafsa KORRI Youssouf	Saclay	Affinité (ADN)		Biocapteurs électrochimique
ECOT - INERIS Unité Écotoxicologie <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>	Public	Selim AIT-AISSA	Verneuil en halatte	Organisme (zebra fish), lignées cellulaires humaines	Perturbateurs endocriniens	Bioessais
GMFA - INRA Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires	Public	Fernanda FONSECA	Versailles/ Grignon	Bactéries lactiques		Domaine agroalimentaire
LBE- INRA Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement	Public	Eric TRABLY/ Jean-Jacques GODON	Narbonne			
LISBP - INRA Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés	Public	Hélène MARTIN-YKEN	Toulouse	Cellulaire (levures)	Toxines	Domaine agroalimentaire

Nom de la structure	Public/ Privé	Contact	Adresse	Type de biocapteur conçu (cellulaire/affinité/enzymatique)	Cible	Type
MICALIS- INRA MICrobiologie de l'ALimentation au Service de la Santé Humaine	Public	Jean-Loup FAULON	Jouy-en-Josas			
PDG-REM-RDT- IFREMER Unité Recherches et Développements Technologiques	Public	Chantal COMPERE/ Catherine DREANNO	Brest	Affinité (anticorps et acides nucléiques)	Toxines en eau de mer	
PDG-ODE-DYNECO-PHYC- IFREMER Laboratoire Phycotoxines	Public	Philipp HESS	Nantes			
CRIOBE - USR 3278, EPHE/ CNRS/ UPVD (ex LCBE) Centre de Recherche Insulaires et Observatoire de l'Environnement	Public	Cédric BERTRAND	Perpignan			

## **Annexe 2**

Projets ANR concernant l'environnement (l'eau en vert, les sols en marron)

Dénomination du projet	Objectifs	Partenaires	date de début et durée	Montant de l'aide ANR	Coordinateur du projet
<a href="#">WaQMoS : Surveillance de la qualité de eaux côtières à l'aide de mollusques bivalves bio-capteurs</a>	L'objectif principal du projet est développement d'un biocapteur, basée sur des mesures et l'interprétation de comportement des mollusques bivalves, pour la détection en ligne de la pollution de l'eau et conséquences du changement climatique côtières. Le développement de biocapteurs est basée sur la technologie de l'équipe EA (CNRS UMR 5805 EPOC, Arcachon) de haute fréquence valvométrie non invasive pour les mollusques et en appliquant de la théorie et les méthodes des systèmes de commande de l'équipe Non-A (Inria, Lille). Le système de surveillance doit avoir des capacités intelligentes et posséder long temps de travail autonome sans intervention humaine. Il se agit d'un projet interdisciplinaire de collaboration (biologie marine -- électronique -- mathématiques appliquées). L'une des principales applications potentielles de la technique est la surveillance de qualité de l'eau sur les côtes et les ports (épisodes de prolifération d'algues, la pollution sonore), et autour de la plateformes de production d'énergie. Une autre application est surveillance d'évolution des écosystèmes due au réchauffement climatique dans les zones sensibles telles que la zone arctique.	CNRS - EPOC laboratory Inria Lille - Nord Europe	48 mois	393 848 euros	Monsieur Denis EFIMOV (Inria Lille - Nord Europe)
<a href="#">RIMAE : Recherche et Industrialisation de Mesures Appliquées à l'Environnement</a>	Création du laboratoire commun RIMAE pour développer puis industrialiser des biocapteurs microbiens aptes à mesurer les effets toxiques dans une approche innovante de création d'empreinte de pollution. RIMAE met en œuvre la complémentarité des savoirs issus du laboratoire GEPEA (Génie des procédés – environnement – agro-alimentaire) UMR CNRS (équipe CBAC - Capteurs Bactériens pour l'Analyse et le Contrôle) spécialiste en biocapteurs microbiens avec une ETI de l'électronique de niveau international, TRONICO-ALCEN, afin de travailler en complémentarité à l'interface de leurs domaines d'excellence. Trois axes de recherche : Amener sur le marché les technologies en cours de maturation au sein du GEPEA qui utilisent un panel de microorganismes différents (bactéries bioluminescentes, levures, algues) afin de construire une empreinte de la toxicité d'un effluent; Associer des biocapteurs au sein d'un réseau communicant; Préparer l'avenir des biocapteurs microbiens en étendant le concept de l'empreinte de pollution à de nouveau mode de mesures	GEPEA UMR GEPEA Génie des Procédés en Environnement et Agroalimentaire	janvier 2016 - 36 mois	300 000 euros	Monsieur Gérald THOUAND (UMR GEPEA Génie des Procédés en Environnement et Agroalimentaire)
<a href="#">CYANOSSENS : Bio-outils pour une détection rapide des cyanotoxines</a>	L'objectif de ce projet est de développer un système de détection basé sur l'activité de l'enzyme qui est la cible naturelle de ces toxines : la protéine phosphatase. Cette enzyme est normalement capable d'hydrolyser une grande quantité de substrat par seconde. Comme son inhibition par les microcystines est irréversible, l'enzyme sert d'amplificateur : une molécule d'inhibiteur inactive/une molécule d'enzyme. Ainsi, ce système de détection permet d'atteindre les performances adaptées à la législation, de l'ordre du ppb (µg/L). Le travail proposé se répartit en plusieurs tâches : un travail d'ingénierie des protéines permettra d'améliorer la production, la sensibilité et la stabilité d'une protéine phosphatase. Un travail de production et de formulation permettra de disposer d'une grande quantité d'enzyme. Plusieurs systèmes de détection seront proposés : un test liquide avec détection colorimétrique, un test « stick » et un biocapteur à détection ampérométrique facile d'emploi ne nécessitant pas d'appareil coûteux. Un système d'automatisation sera envisagé pour étendre ces techniques de mesures ponctuelles aux mesures en flux continu. Le biocapteur sera validé par rapport aux techniques classiques de la chimie analytique sur des échantillons réels. L'objectif de ce projet est la mise au point d'un prototype pouvant être commercialisé rapidement.	CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE MIDI-PYRENEES INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES - INSA TOULOUSE UNIVERSITE DE PERPIGNAN	18 mois	149 000 euros	UNIVERSITE DE PERPIGNAN (UNIVERSITE DE PERPIGNAN)
<a href="#">DOLFIN : MultiBioCapteur intégrant des détecteurs optiques de fluorescence et des cellules électrochimiques sur une plateforme microfluidique pour l'analyse couplée de la pollution de l'eau.</a>	Développer une plateforme portable et sensible dédiée à la détection de la pollution de l'eau pour des diagnostics rapides. Ce travail sera concentré sur les aspects suivants : détection et analyse de plusieurs analytes sur une seule plateforme, et miniaturisation pour utilisation sur site. Pour atteindre ces objectifs, une puce constituée de microsystèmes électrochimiques (microcellules électrochimiques à trois électrodes) et optiques (diodes électroluminescentes organiques OLEDs et photodiodes organiques OPDs) intégrés est proposée. Afin d'augmenter la sensibilité et la sélectivité du système, la détection sera basée sur l'utilisation d'algues ou de cyanobactéries comme biocapteur. L'outil développé sera un outil d'alerte permettant de mieux cibler les échantillons devant faire l'objet d'analyse par des laboratoires spécialisés.	CNRS Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes	janvier 2014 - 42 mois	240 000 euros	Monsieur Jérôme LAUNAY (Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes) jlaunay@laas.fr
<a href="#">EVASOL : Evaluation et Développement du Traitement Anaérobie des Sites Pollués par les Solvants Chlorés</a>	Développement de nouvelles techniques basées sur un monitoring chimique en continu grâce à des biosensors parallèlement avec l'analyse microbiologique de la microflore grâce à des puces à ADN s'affichent comme des outils complémentaires, indispensables à l'évaluation de la réhabilitation des sites pollués.	TPE ECOLE CENTRALE DE LYON SITA REMEDIATION UNIVERSITE BLAISE PASCAL - CLERMONT-FERRAND II UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I	36 mois	620 962 euros	Monsieur Jean-Yves RICHARD (SITA REMEDIATION)

Dénomination du projet	Objectifs	Partenaires	date de début et durée	Montant de l'aide ANR	Coordinateur du projet
<a href="#">TRICETOX : Impact environnemental des herbicides <math>\beta</math>-tricétones synthétiques et naturels : détection, adaptation microbienne, biodégradation et toxicité.</a>	Le projet TRICETOX se focalisera sur l'étude des herbicides de la famille des $\beta$ -tricétones, herbicides de nouvelle génération, sélectifs pour la culture du maïs en traitement post-levée et utilisés en remplacement de l'atrazine, interdite dans de nombreux pays européens depuis 2003. Dans cette famille, 4 molécules vont être étudiées: deux composés synthétiques, la sulcotrione et la mésotrione et deux composés naturels, la leptospermone et la myrigalone. Les objectifs visés sont (i) le développement d'outils analytiques innovants et peu coûteux de type bioessais et biocapteurs pour la détection des herbicides tricétones. (ii) la caractérisation du système génétique impliqué dans les voies métaboliques de dégradation des tricétones chez <i>Pseudomonas putida</i> 1OP, souche sulcotrione dégradante et <i>Bacillus sp.</i> 3B6, souche mésotrione dégradante. (iii) l'étude des herbicides tricétones d'origine naturelle via leur comportement dans le sol, leur impact sur les communautés microbiennes, leur(s) voie(s) de biodégradation et leur toxicité, ainsi que celle de leurs produits de dégradation. (iv) la communication à des publics scientifiques et aussi aux non initiés, la contribution aux formations de l'enseignement supérieur ainsi que la valorisation des résultats auprès des entreprises	AgroEcology INRA ICCF Institut de Chimie de Clermont-Ferrand UPVD-IMAGES Institut de Modélisation et d'Analyses en Environnement et Santé UPVD-LCBE Laboratoire de Chimie des Biomolécules et de l'Environnement LMGE Laboratoire Microorganismes: Genome et Environnement USDA Natural Products Utilization Research unit	septembre 2013 - 48 mois	410 000 euros	Madame Lise BARTHELMEBS (Institut de Modélisation et d'Analyses en Environnement et Santé) barthelm@univ-perp.fr
<a href="#">SENCEI : Capteur de type FET ultra-sensible et versatile: Application à la détection du césium</a>	Développement d'un capteur versatile permettant la détection de quantités femtomolaires (pg/l) d'ions/molécules en solution et à l'horizon 20/30 ans, la détection de molécules d'intérêt dans l'eau (potable ou naturelle). Des plateformes multiplexées pourront être développées pour la détection simultanée de diverses molécules/ions. La connectivité, le transfert et le stockage de données fait parti du développement futur de ce capteur. On peut envisager par exemple le transfert de donnée via un smartphone en utilisant le bluetooth.	CNRS DR12-CINaM Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS DR12 NIMS	janvier 2017 - 36 mois	249 150 euros	Madame Anne CHARRIER (Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS DR12)
<a href="#">COMBITOX : Conception d'un instrument pour la Mesure Biologique multiparamétrique en continu de TOXiques</a>	Développement d'un système intégré et transportable permettant la détection rapide de multiples polluants par des non-spécialistes. Plus précisément, l'approche consiste en une mesure chimioluminescente ou fluorescente d'une interaction biologique ou biochimique générée entre un contaminant et un élément de reconnaissance biologique (ERB). L'objectif est de permettre le contrôle de la présence de ces contaminants "n'importe où, n'importe quand et par n'importe qui"	AP2E ARMINES ASSOCIATION POUR LA RECHERCHE ET LE DEVELOPPEMENT DES METHODES ET PROCESSUS INDUSTRIELS (ARMINES) LCB-CNRS-DR12 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE PROVENCE ET CORSE M-A-P-CNRS-DR7 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE RHONE-AUVERGNE	janvier 2012 - 36 mois	999 677 euros	Monsieur David PIGNOL (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES (C.E.A.) - CENTRE D'ETUDE NUCLEAIRE DE CADARACHE)



## **Annexe 3**

Projets concernant l'environnement (l'eau en vert, les sols en marron)

Dénomination du projet	Objectifs	Partenaires	date de début et durée	Montant de la subvention	Coordinateur du projet
<a href="#">BEEP-WATER : Surveillance de la qualité de eaux côtières à l'aide de mollusques bivalves bio-capteurs</a>	L'objectif principal du projet est développement d'un biocapteur, basée sur des mesures et l'interprétation de comportement des mollusques bivalves, pour la détection en ligne de la pollution de l'eau et conséquences du changement climatique côtières. Le développement de biocapteurs est basée sur la technologie de l'équipe EA (CNRS UMR 5805 EPOC, Arcachon) de haute fréquence valvométrie non invasive pour les mollusques et en appliquant de la théorie et les méthodes des systèmes de commande de l'équipe Non-A (Inria, Lille). Le système de surveillance doit avoir des capacités intelligentes et posséder long temps de travail autonome sans intervention humaine. Il se agit d'un projet interdisciplinaire de collaboration (biologie marine -- électronique -- mathématiques appliquées). L'une des principales applications potentielles de la technique est la surveillance de qualité de l'eau sur les côtes et les ports (épisodes de prolifération d'algues, la pollution sonore), et autour de la plateformes de production d'énergie. Une autre application est surveillance d'évolution des écosystèmes due au réchauffement climatique dans les zones sensibles telles que la zone arctique.	CNRS - EPOC laboratory Inria Lille - Nord Europe	48 mois	393 848 euros	Monsieur Denis EFIMOV (Inria Lille - Nord Europe)
<a href="#">RIMAE : Recherche et Industrialisation de Mesures Appliquées à l'Environnement</a>	Création du laboratoire commun RIMAE pour développer puis industrialiser des biocapteurs microbiens aptes à mesurer les effets toxiques dans une approche innovante de création d'empreinte de pollution. RIMAE met en œuvre la complémentarité des savoirs issus du laboratoire GEPEA (Génie des procédés – environnement – agro-alimentaire) UMR CNRS (équipe CBAC - Capteurs Bactériens pour l'Analyse et le Contrôle) spécialiste en biocapteurs microbiens avec une ETI de l'électronique de niveau international, TRONICO-ALCEN, afin de travailler en complémentarité à l'interface de leurs domaines d'excellence. Trois axes de recherche : Amener sur le marché les technologies en cours de maturation au sein du GEPEA qui utilisent un panel de microorganismes différents (bactéries bioluminescentes, levures, algues) afin de construire une empreinte de la toxicité d'un effluent; Associer des biocapteurs au sein d'un réseau communicant; Préparer l'avenir des biocapteurs microbiens en étendant le concept de l'empreinte de pollution à de nouveau mode de mesures	GEPEA UMR GEPEA Génie des Procédés en Environnement et Agroalimentaire	janvier 2016 - 36 mois	300 000 euros	Monsieur Gérald THOUAND (UMR GEPEA Génie des Procédés en Environnement et Agroalimentaire)
<a href="#">CYANOSENS : Bio-outils pour une détection rapide des cyanotoxines</a>	L'objectif de ce projet est de développer un système de détection basé sur l'activité de l'enzyme qui est la cible naturelle de ces toxines : la protéine phosphatase. Cette enzyme est normalement capable d'hydrolyser une grande quantité de substrat par seconde. Comme son inhibition par les microcystines est irréversible, l'enzyme sert d'amplificateur : une molécule d'inhibiteur inactive/une molécule d'enzyme. Ainsi, ce système de détection permet d'atteindre les performances adaptées à la législation, de l'ordre du ppb (µg/L). Le travail proposé se répartit en plusieurs tâches : un travail d'ingénierie des protéines permettra d'améliorer la production, la sensibilité et la stabilité d'une protéine phosphatase. Un travail de production et de formulation permettra de disposer d'une grande quantité d'enzyme. Plusieurs systèmes de détection seront proposés : un test liquide avec détection colorimétrique, un test « stick » et un biocapteur à détection ampérométrique facile d'emploi ne nécessitant pas d'appareil coûteux. Un système d'automatisation sera envisagé pour étendre ces techniques de mesures ponctuelles aux mesures en flux continu. Le biocapteur sera validé par rapport aux techniques classiques de la chimie analytique sur des échantillons réels. L'objectif de ce projet est la mise au point d'un prototype pouvant être commercialisé rapidement.	CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE MIDI-PYRENEES INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES - INSA TOULOUSE UNIVERSITE DE PERPIGNAN	18 mois	149 000 euros	UNIVERSITE DE PERPIGNAN (UNIVERSITE DE PERPIGNAN)
<a href="#">DOLFIN : MultiBioCapteur intégrant des détecteurs optiques de fluorescence et des cellules électrochimiques sur une plateforme microfluidique pour l'analyse couplée de la pollution de l'eau.</a>	Développer une plateforme portable et sensible dédiée à la détection de la pollution de l'eau pour des diagnostics rapides. Ce travail sera concentré sur les aspects suivants : détection et analyse de plusieurs analytes sur une seule plateforme, et miniaturisation pour utilisation sur site. Pour atteindre ces objectifs, une puce constituée de microsystèmes électrochimiques (microcellules électrochimiques à trois électrodes) et optiques (diodes électroluminescentes organiques OLEDs et photodiodes organiques OPDs) intégrés est proposée. Afin d'augmenter la sensibilité et la sélectivité du système, la détection sera basée sur l'utilisation d'algues ou de cyanobactéries comme biocapteur. L'outil développé sera un outil d'alerte permettant de mieux cibler les échantillons devant faire l'objet d'analyse par des laboratoires spécialisés.	CNRS Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes	janvier 2014 - 42 mois	240 000 euros	Monsieur Jérôme LAUNAY (Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes) jlaunay@laas.fr
<a href="#">EVASOL : Evaluation et Développement du Traitement Anaérobie des Sites Pollués par les Solvants Chlorés</a>	Développement de nouvelles techniques basées sur un monitoring chimique en continu grâce à des biosensors parallèlement avec l'analyse microbiologique de la microflore grâce à des puces à ADN s'affichent comme des outils complémentaires, indispensables à l'évaluation de la réhabilitation des sites pollués.	TPE ECOLE CENTRALE DE LYON SITA REMEDIATION UNIVERSITE BLAISE PASCAL - CLERMONT-FERRAND II UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I	36 mois	620 962 euros	Monsieur Jean-Yves RICHARD (SITA REMEDIATION)

Dénomination du projet	Objectifs	Partenaires	date de début et durée	Montant de la subvention	Coordinateur du projet
<a href="#">TRICETOX : Impact environnemental des herbicides <math>\beta</math>-tricétones synthétiques et naturels : détection, adaptation microbienne, biodégradation et toxicité.</a>	Le projet TRICETOX se focalisera sur l'étude des herbicides de la famille des $\beta$ -tricétones, herbicides de nouvelle génération, sélectifs pour la culture du maïs en traitement post-levée et utilisés en remplacement de l'atrazine, interdite dans de nombreux pays européens depuis 2003. Dans cette famille, 4 molécules vont être étudiées: deux composés synthétiques, la sulcotrione et la mésotrione et deux composés naturels, la leptospermone et la myrigalone. Les objectifs visés sont (i) le développement d'outils analytiques innovants et peu coûteux de type bioessais et biocapteurs pour la détection des herbicides tricétones. (ii) la caractérisation du système génétique impliqué dans les voies métaboliques de dégradation des tricétones chez <i>Pseudomonas putida</i> 1OP, souche sulcotrione dégradante et <i>Bacillus</i> sp. 3B6, souche mésotrione dégradante. (iii) l'étude des herbicides tricétones d'origine naturelle via leur comportement dans le sol, leur impact sur les communautés microbiennes, leur(s) voie(s) de biodégradation et leur toxicité, ainsi que celle de leurs produits de dégradation. (iv) la communication à des publics scientifiques et aussi aux non initiés, la contribution aux formations de l'enseignement supérieur ainsi que la valorisation des résultats auprès des entreprises	AgroEcology INRA ICCF Institut de Chimie de Clermont-Ferrand UPVD-IMAGES Institut de Modélisation et d'Analyses en Environnement et Santé UPVD-LCBE Laboratoire de Chimie des Biomolécules et de l'Environnement LMGE Laboratoire Microorganismes: Genome et Environnement USDA Natural Products Utilization Research unit	septembre 2013 - 48 mois	410 000 euros	Madame Lise BARTHELMEBS (Institut de Modélisation et d'Analyses en Environnement et Santé) barthelm@univ-perp.fr
<a href="#">SENCEI : Capteur de type FET ultra-sensible et versatile: Application à la détection du césium.</a>	Développement d'un capteur versatile permettant la détection de quantités femtomolaires (pg/l) d'ions/molécules en solution dans l'eau (potable ou naturelle). Des plateformes multiplexées pourront être développées pour la détection simultanée de diverses molécules/ions. La connectivité, le transfert et le stockage de données fait parti du développement futur de ce capteur. On peut envisager par exemple le transfert de donnée via un smartphone en utilisant le bluetooth.	CNRS DR12-CINaM Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS DR12 NIMS	janvier 2017 - 36 mois	249 150 euros	Madame Anne CHARRIER (Centre National de la Recherche Scientifique, CNRS DR12)
<a href="#">COMBITOX : Concept ion d'un instrument pour la Mesure Biologique multiparamétrique en continu de TOXiques</a>	Développement d'un système intégré et transportable permettant la détection rapide de multiples polluants par des non-spécialistes. Plus précisément, l'approche consiste en une mesure chimioluminescente ou fluorescente d'une interaction biologique ou biochimique générée entre un contaminant et un élément de reconnaissance biologique (ERB). L'objectif est de permettre le contrôle de la présence de ces contaminants "n'importe où, n'importe quand et par n'importe qui"	AP2E ARMINES ASSOCIATION POUR LA RECHERCHE ET LE DEVELOPPEMENT DES METHODES ET PROCESSUS INDUSTRIELS (ARMINES) LCB-CNRS-DR12 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE PROVENCE ET CORSE M-A-P-CNRS-DR7 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - DELEGATION REGIONALE RHONE-AUVERGNE	janvier 2012 - 36 mois	999 677 euros	Monsieur David PIGNOL (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES (C.E.A.) - CENTRE D'ETUDE NUCLEAIRE DE CADARACHE)

## **Annexe 4**

Références des revues ayant publié des articles de synthèse

Order	Key	Title	Author	PublicationYear	PublicationTitle
1	59QQIN3N	Thermolysin entrapped in a gold nanoparticles/polymer composite for direct and sensitive conductometric biosensing of ochratoxin A in olive oil	Dridi, Fatma; Marrakchi, Mouna; Gargouri, Mohamed; Garcia-Cruz, Alvaro; Dzyadevych, Sergei; Vocanson, Francis; Saulnier, Joelle; Jaffrezic-Renault, Nicole; Lagarde, Florence	2015	Sensors and Actuators B Chemical
2	6QFNZNJJ	Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment	Farré, Marinella; Pérez, Sandra; Gonçalves, Carlos; Alpendurada, M.F.; Barceló, Damià	2010	BioCop – Monitoring chemical contaminants in foods
3	SDD5SIRR	Sensors and biosensors for monitoring marine contaminants	Justino, Celine I.L.; Freitas, Ana C.; Duarte, Armando C.; Santos, Teresa A.P.Rocha	2015	Trends in Environmental Analytical Chemistry
4	4VAZPFJ	Gold nanorod-based localized surface plasmon resonance biosensors: A review	Cao, Jie; Sun, Tong; Grattan, Kenneth T.V.	2014	Sensors and Actuators B Chemical
5	NHMH355N	Sensors and technologies for in situ dissolved methane measurements and their evaluation using Technology Readiness Levels	Boulart, C.; Connelly, D.P.; Mowlem, M.C.	2010	TrAC Trends in Analytical Chemistry
6	CJ9M3UK3	Mimicking nature's noses: From receptor deorphaning to olfactory biosensing	Glatz, Richard; Bailey-Hill, Kelly	2011	Progress in Neurobiology
7	VPSUDSHD	A self-assembled monolayers based conductometric algal whole cell biosensor for water monitoring	Guedri, Houssemeddine; Durrieu, Claude	2008	Microchimica Acta
8	KFZDUVXV	Biotoxin Detection Using Cell- Based Sensors	Banerjee, Pratik; Kintzios, Spyridon; Prabhakarapandian, Balabhaskar	2013	Toxins
9	KHJ4AZCK	Comparative advantages of mechanical biosensors	Arlett, J. L.; Myers, E. B.; Roukes, M. L.	2011	Nature Nanotechnology
10	W56BW4SE	Electrochemical biosensors - Sensor principles and architectures	Grieshaber, Dorothee; MacKenzie, Robert; Voeroes, Janos; Reimhult, Erik	2008	Sensors
11	WVFSJISE	Immunoanalytical techniques for analyzing pesticides in the environment	Raman Suri, C.; Boro, Robin; Nangia, Yogesh; Gandhi, Sonu; Sharma, Priyanka; Wangoo, Nishima; Rajesh, Kumar; Shekhawat, G.S.	2009	TrAC Trends in Analytical Chemistry
12	IIU5S7RH	Nitrate biosensors and biological methods for nitrate determination	Sohail, Manzar; Adeloju, Samuel B.	2016	Talanta
13	BKMSF7KM	Progress and recent advances in phosphate sensors: A review	Law al, Abdulazeez.T.; Adeloju, Samuel.B.	2013	Talanta
14	WW8TEX83	Xenon for NMR biosensing – Inert but alert	Schröder, Leif	2013	Physica Medica
15	WHFKZUCV	Biology and applications of olfactory sensing system: A review	Sankaran, Sindhuja; Khot, Lav R.; Panigrahi, Suranjan	2012	Sensors and Actuators B Chemical
16	TU7VS8HG	The future of biotechnology for gold exploration and processing	Zammit, Carla M.; Cook, Nigel; Brugger, Joël; Ciobanu, Cristiana L.; Reith, Frank	2012	Minerals Engineering
17	NZPSETHG	DNAzyme-based biosensor for detection of lead ion: A review	Liang, Gang, Man, Yan; Li, An; Jin, Xinxin; Liu, Xinhui; Pan, Ligang	2017	Microchemical Journal
18	75TAJQZZ	Current progress in biosensors for heavy metal ions based on DNAzymes/DNA molecules functionalized nanostructures: A review	Zhou, Y.; Tang, L.; Zeng, G.; Zhang, C.; Zhang, Y.; Xie, X.	2016	Sensors and Actuators B Chemical
19	BENVTK47	Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review	Songa, E.A.; Okonkwo, J.O.	2016	Talanta
20	D4FVA9Q7	Nanomaterials-based optical techniques for the detection of acetylcholinesterase and pesticides	Xia, N.; Wang, Q.; Liu, L.	2015	Sensors (Switzerland)
21	9CQWTSDD	Fiber-optic chemical sensors and fiber-optic biosensors	Pospíšilová, M.; Kuncová, G.; Trágl, J.	2015	Sensors (Switzerland)
22	39C9K2GU	Microbial fuel cell-based biosensors for environmental monitoring: A review	Sun, J.-Z.; Kingori, G.P.; Si, R.-W.; Zhai, D.-D.; Liao, Z.-H.; Sun, D.-Z.; Zheng, T.; Yong, Y.-C.	2015	Water Science and Technology
23	MKAVH879	Recent trends in development of biosensors for detection of microcystin	Singh, S.; Srivastava, A.; Oh, H.-M.; Ahn, C.-Y.; Choi, G.-G.; Asthana, R.K.	2012	Toxicon
24	R5CZWNWG	Composite materials based on ormosil for the construction of electrochemical sensors and biosensors	Tiwari, I.; Singh, K.P.	2012	Russian Journal of General Chemistry
25	V95NKH54	Biological sensors for solar ultraviolet radiation.	Yagura, T.; Makita, K.; Yamamoto, H.; Menck, C.F.; Schuch, A.P.	2011	Sensors (Basel Switzerland)
26	EH365B5V	Analytical methods for pesticides and herbicides	Liang, H.C.; Hay, M.T.	2011	Water Environment Research
27	JXFGTCG3	Bacterial biosensors for measuring availability of environmental pollutants	Tecon, R.; Van Der Meer, J.R.	2008	Sensors
28	XWAB7QMM	Transgenic plants as sensors of environmental pollution genotoxicity	Kovalchuk, I.; Kovalchuk, O.	2008	Sensors
29	VIX8XPNB	Carbon nanotube-based electrochemical biosensing platforms: fundamentals, applications, and future possibilities.	Luong J.H.; Male, K.B.; Hrapovic, S.	2007	Recent patents on biotechnology
30	S3CXRRWD	Fundamentals and application of biosensors	Karya, S.K.; Chaubey, A.; Malhotra, B.D.	2006	Proceedings of the Indian National Science Academy
31	I45XF8JF	Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents	Zhang, Weiying; Asiri, Abdullah Mohamed; Liu, Deli; Du, Dan; Lin, Yuehe	2014	TrAC Trends in Analytical Chemistry
32	IS28TSXI	Toxicity assessment using different bioassays and microbial biosensors	Hassan, Sedky H.A.; Van Ginkel, Steven W.; Hussein, Mohamed A.M.; Abskharon, Romany; Oh, Sang-Eun	2016	Environment International
33	UTD24SWK	Hydrogel microparticles for biosensing	Le Goff, Gaëlle C.; Srinivas, Rathi L.; Hill, W. Adam; Doyle, Patrick S.	2015	European Polymer Journal
34	I3AWM9QE	Toxicity measurement in biological wastewater treatment processes: A review	Xiao, Yeyuan; Araujo, Cecilia De; Sze, Chun Chau; Stuckey, David C.	2015	Journal of Hazardous Materials



35	U7M6PQBG	Enzymes as useful tools for environmental purposes	Rao, M.A.; Scelza, R.; Acevedo, F.; Diez, M.C.; Gianfreda, L.	2014	Chemosphere
36	ENUFPPM7	Achievements and future trends in the analysis of emerging organic contaminants in environmental samples by mass spectrometry and bioanalytical techniques	Farré, Marinella; Kantiani, Lina; Petrovic, Mira; Pérez, Sandra; Barceló, Damià	2012	Mass Spectrometry Innovation and Application Part VII
37	JM2K1XX9	Application of Biosensor Surface Immobilization Methods for Aptamer	ZHOU, Ling; WANG, Ming-Hua; WANG, Jian-Ping; YE, Zhun-Zhong	2011	Chinese Journal of Analytical Chemistry
38	3XZ42BJF	Biosensors for pharmaceuticals based on novel technology	Sanvicens, Nuria; Mannelli, Ilaria; Salvador, J.-Pablo; Valera, Enrique; Marco, M.-Pilar	2011	Characterization Analysis and Risks of Nanomaterials in Environmental and Food Samples II
39	IDKTJ9PI	Cell culture-based biosensing techniques for detecting toxicity in water	Tan, Lu; Schirmer, Kristin	2017	Energy biotechnology • Environmental biotechnology
40	MJ2NKRNS	New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications	Restuccia, Donatella; Spizzirri, U. Gianfranco; Parisi, Ortensia I.; Grillo, Giuseppe; Curcio, Manuela; Iemma, Francesca; Puoci, Francesco; Vinci, Giuliana; Picci, Nevio	2010	Food Control
41	VRPCFWDK	Materials science and the sensor revolution	Byrne, Robert; Benito-Lopez, Fernando; Diamond, Dermot	2010	Materials Today
42	WSTGXGCS	Whole-cell biosensors for detection of heavy metal ions in environmental samples based on metallothionein promoters from Tetrahymena thermophila	Amaro, F.; Turkewitz, A.P.; Martín-González, A.; Gutiérrez, J.-C.	2011	Microbial Biotechnology
43	6MAAVAJQ	Aptamer-based environmental biosensors for small molecule contaminants	Nguyen, V.-T.; Kwon, Y.S.; Gu, M.B.	2017	Current Opinion in Biotechnology
44	HX7B49Z2	Enzyme Immobilization by Amperometric Biosensors with TiO2 Nanoparticles Used to Detect Phenol Compounds	Romero-Arcos, M.; Garnica-Romero, M.G.; Martínez-Flores, H.E.; Vázquez-Marrufo, G.; Ramírez-Bon, R.; González-Hernández, J.; Barbosa-Cánovas, G.V.	2016	Food Engineering Reviews
45	QSDAK8XX	Nanomaterials for electrochemical sensing and decontamination of pesticides	Viswanathan, S.; Manisankar, P.	2015	Journal of Nanoscience and Nanotechnology
46	I88X2IS5	Carbon nanostructures for development of acetylcholinesterase electrochemical biosensors for determination of pesticides	Xia, N.; Gao, Y.	2015	International Journal of Electrochemical Science
47	B4SEJ44F	Nanomaterials based acetylcholinesterase biosensors for organophosphorus compounds detection: Review	Dhull, V.; Dilbaghi, N.; Hooda, V.	2015	International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences
48	M9MXUMSA	Utilizing insect behavior in chemical detection by a behavioral biosensor	Fernández-Grandon, G.M.; Girling, R.D.; Poppy, G.M.	2011	Journal of Plant Interactions
49	VHRIU2SJ	Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment	Van Dyk, J.S.; Pletschke, B.	2011	Chemosphere
50	W8NZZR7	Nanostructures in biosensor-a review	Yeom, S.-H.; Kang, B.-H.; Kim, K.-J.; Kang, S.-W.	2011	Frontiers in Bioscience
51	2IKHG95C	Microcapsules as optical biosensors	McShane, M.; Ritter, D.	2010	Journal of Materials Chemistry
52	293DB4BR	New trends in bio/nanotechnology: Stable proteins as advanced molecular tools for health and environment	Staiano, M.; Baldassarre, M.; Esposito, M.; Apicella, E.; Vitale, R.; Aurilia, V.; D'Auria, S.	2010	Environmental Technology
53	ZD9MV3WN	Electrochemical biosensor technology: application to pesticide detection.	Palchetti, I.; Laschi, S.; Mascini, M.	2009	Methods in molecular biology (Clifton NJ)
54	QIMZT6FS	An overview of conventional and emerging analytical methods for the determination of mycotoxins	Cigic, I.K.; Prosen, H.	2009	International Journal of Molecular Sciences
55	5QNTSVEN	Live reports from the soil grain - The promise and challenge of microbiosensors	Gage, D.J.; Herron, P.M.; Arango Pinedo, C.; Cardon, Z.G.	2008	Functional Ecology
56	WINKPS2T	Recent biosensing developments in environmental security	Wanekaya, A.K.; Chen, W.; Mulchandani, A.	2008	Journal of Environmental Monitoring
57	7N3RVG6N	Biosensors and ecotoxicology	Hansen, P.-D.	2008	Engineering in Life Sciences
58	H7ZWM9DM	Advances in the manufacturing types, and applications of biosensors	Ravidra, N.M.; Prodan, C.; Fnu, S.; Padroni, I.; Sikha, S.K.	2007	JOM
59	4S1AGIFM	Electrochemical biosensors for pollutants in the environment	Badihi-Mossberg, M.; Buchner, V.; Rishpon, J.	2007	Electroanalysis
60	SIVJ8SA5	Surface plasmon resonance biosensors for detection of pathogenic microorganisms: Strategies to secure food and environmental safety	Bergwerff, A.A.; Van Knapen, F.	2006	Journal of AOAC International
61	QQ85J5MW	DNAzymes in environmental sensing	Vannela, R.; Adriaens, P.	2006	Critical Reviews in Environmental Science and Technology
62	H8E94T8U	THz biosensing devices: Fundamentals and technology	Nagel, M.; Först, M.; Kurz, H.	2006	Journal of Physics Condensed Matter
63	FXDIJ2IP	Selection of aptamers against Ara h 1 protein for FO-SPR biosensing of peanut allergens in food matrices	Tran, Dinh T.; Knez, Karel; Janssen, Kris P.; Pollet, Jeroen; Spasic, Dragana; Lam mertyn, Jeroen	2013	Biosensors and Bioelectronics
64	V29VIU2X	Paper-based chemical and biological sensors: Engineering aspects	Ahmed, Snober; Bui, Minh-Phuong Ngoc; Abbas, Abdennour	2016	Biosensors and Bioelectronics
65	TB2RKGNM	Acoustic wave based MEMS devices for biosensing applications	Voiculescu, Ioana; Nordin, Anis Nurashikin	2012	Biosensors and Bioelectronics
66	MZ6D7KHS	Emerging high-throughput approaches to analyze bioremediation of sites contaminated with hazardous and/or recalcitrant wastes	Stenuit, Ben; Eysers, Laurent; Schuler, Luc; Agathos, Spiros N.; George, Isabelle	2008	Biotechnology Advances
67	IPQIU8NV	High-performance integrated field-effect transistor-based sensors	Adzhri, R.; Md Arshad, M.K.; Gopinath, Subash C.B.; Ruslinda, A.R.; Fathil, M.F.M.; Ayub, R.M.; Nor, M. Nuzaihan Mohd; Yoon, C.H.	2016	Analytica Chimica Acta
68	FKC3MPE3	Immunosensors for detection of pesticide residues	Jiang, Xuesong; Li, Dongyang; Xu, Xia; Ying Yibin; Li, Yanbin; Ye, Zunzhong; Wang, Jianping	2008	Biosensors and Bioelectronics
69	TU6VASPN	Information from single-cell bacterial biosensors: what is it good for?	Tecon, Robin; van der Meer, Jan Roelof	2006	Analytical biotechnology Edited by Jan Roelof van der Meer and J Colin Murrel

70	6JFKTDTR	Microfluidics and biosensors as tools for NanoBioSystems research with applications in the "Life Science"	Schober, Andreas; Augspurger, Caroline; Fernekorn, Uta; Weibezahn, Karl-Friedrich; Schlinghoff, Gregor; Gebinoga, Michael; Worgull, Mathias; Schneider, Mark; Hildmann, Christian; Weise, Frank; Hampf, Jörg; Silveira, Liele; Cimalla, Irina; Lübbers, Benedikt	2010	BIOINSPIRED AND BIOINTEGRATED MATERIALS AS NEW FRONTIERS NANOMATERIALS I Symposium M of the 2009 E-MRS Spring Meeting Strasbourg France June 8-12 2009
71	4SSAVD4Q	Biosensor Based on Chitosan Nanocomposite	Li, Baoqiang; Cheng Yinfeng; Xu, Feng; Wang, Lei; Wei, Daqing; Jia, Dechang; Feng, Yujie; Zhou, Yu	2015	Advanced Bioelectronics Materials
72	P65JU9MX	Recent advances in DNA-based electrochemical biosensors for heavy metal ion detection: A review	Saidur, M.R.; Aziz, A.R.A.; Basirun, W.J.	2017	Biosensors and Bioelectronics
73	7G7BF25A	Biosensors and their applications in detection of organophosphorus pesticides in the environment	Hassani, S.; Montaz, S.; Vakhshiteh, F.; Maghsoudi, A.S.; Ganjali, M.R.; Norouzi, P.; Abdollahi, M.	2017	Archives of Toxicology
74	VX3NZF4R	Comparison of electrochemical immunosensors and aptasensors for detection of small organic molecules in environment, food safety, clinical and public security	Piro, B.; Shi, S.; Reisberg, S.; Noël, V.; Anquetin, G.	2016	Biosensors
75	HQTDR48V	Recent advances in surface functionalization techniques on polymethacrylate materials for optical biosensor applications	Hosseini, S.; Ibrahim, F.; Djordjevic, I.; Koole, L.H.	2014	Analyst
76	H9X8AP97	Silicon nanowires as field-effect transducers for biosensor development: A review	Noor, M.O.; Krull, U.J.	2014	Analytica Chimica Acta
77	7S3JZFYG	Design, construction, and characterization of a set of biosensors for aromatic compounds	Xue, H.; Shi, H.; Yu, Z.; He, S.; Liu, S.; Hou, Y.; Pan, X.; Wang, H.; Zheng, P.; Cui, C.; Viets, H.; Liang, J.; Zhang, Y.; Chen, S.; Zhang, H.M.; Ouyang, Q.	2014	ACS Synthetic Biology
78	34HJE2HD	On-site airborne pheromone sensing	Wehrenfennig, C.; Schott, M.; Gasch, T.; Düring, R.A.; Vilcinskas, A.; Kohl, C.-D.	2013	Analytical and Bioanalytical Chemistry
79	JZ2WI9UZ	Responsive polymers for analytical applications: A review	Islam, M.R.; Lu, Z.; Li, X.; Sarker, A.K.; Hu, L.; Choi, P.; Li, X.; Hakobyan, N.; Serpe, M.J.	2013	Analytica Chimica Acta
80	69W3UEQ9	Functionalized ceramics for biomedical, biotechnological and environmental applications	Treccani, L.; Yvonne Klein, T.; Meder, F.; Pardun, K.; Rezwani, K.	2013	Acta Biomaterialia
81	GCPHRX6E	Sensing and analysis of soluble phosphates in environmental samples: A review	Warwick, C.; Guerreiro, A.; Soares, A.	2013	Biosensors and Bioelectronics
82	KV2TTK19	Advances in pesticide biosensors: Current status, challenges, and future perspectives	Liu, S.; Zheng, Z.; Li, X.	2013	Analytical and Bioanalytical Chemistry
83	TVQVGA7C	Active cellular sensing with quantum dots: Transitioning from research tool to reality; a review	Delehanty, J.B.; Susumu, K.; Manthe, R.L.; Algar, W.R.; Medintz, I.L.	2012	Analytica Chimica Acta
84	MIE2AD8D	Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review	Pundir, C.S.; Chauhan, N.	2012	Analytical Biochemistry
85	W9TZGIND	Staying alive: New perspectives on cell immobilization for biosensing purposes	Michellini, E.; Roda, A.	2012	Analytical and Bioanalytical Chemistry
86	QDVRFEI	Micro-algal biosensors	Brayner, R.; Couté, A.; Livage, J.; Perrette, C.; Sicard, C.	2011	Analytical and Bioanalytical Chemistry
87	AVW6UENV	Photonics-on-a-chip: Recent advances in integrated waveguides as enabling detection elements for real-world, lab-on-a-chip biosensing applications	Washburn, A.L.; Bailey, R.C.	2011	Analyst
88	T62HUSXU	Recent advances in recognition elements of food and environmental biosensors: A review	Van Dorst, B.; Mehta, J.; Bekaert, K.; Rouah-Martin, E.; De Coen, W.; Dubruel, P.; Blust, R.; Robbens, J.	2010	Biosensors and Bioelectronics
89	VRCCSIRJ	Analytical methodologies for the determination of nitroimidazole residues in biological and environmental liquid samples: A review	Mahugo-Santana, C.; Sosa-Ferrera, Z.; Torres-Padrón, M.E.; Santana-Rodríguez, J.J.	2010	Analytica Chimica Acta
90	ES47IAAK	Microcantilever biosensors based on conformational change of proteins	Ji, H.-F.; Gao, H.; Buchapudi, K.R.; Yang, X.; Xu, X.; Schulte, M.K.	2008	Analyst
91	BHJAXG5	Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis	Tudorache, M.; Bala, C.	2007	Analytical and Bioanalytical Chemistry
92	XIBUCDSW	Entrapment of biomolecules in sol-gel matrix for applications in biosensors: Problems and future prospects	Gupta, R.; Chaudhury, N.K.	2007	Biosensors and Bioelectronics
93	ESMRA58S	Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring	Amine, A.; Mohammadi, H.; Bourais, I.; Palleschi, G.	2006	Biosensors and Bioelectronics

## Annexe 5



# FLUOTOX

## BIOCAPTEUR DE POLLUTION DE L'EAU

Détection des traces d'herbicides : atrazine, diuron...



- \* **Réactif biologique : Algues chlorophylliennes**
- \* **Haute sensibilité aux herbicides**
- \* **Contrôle en continu de la qualité de l'eau**
- \* **Enregistrement et stockage des mesures**
- \* **Alarme en cas de pollutions.**

IFETURA-eu - Rue du Mad – 54530 ARNAVILLE **if** : 03 83 80 02 02 C8 : 03 83 81 74 30  
C8 [arnatronic@arnatronic.com](mailto:arnatronic@arnatronic.com)  
site internet : <http://arnatronic.com>

# FLUOTOX

## GENERALITES

Les herbicides sélectifs utilisés en agriculture étaient considérés naguère sans danger pour l'homme. Cependant, de récentes recherches ont montré qu'à long terme, ils ont un effet oestrogène et provoquent par exemple des cancers du sein. Or, nous les retrouvons aujourd'hui dans les fleuves et les nappes phréatiques à des concentrations pouvant atteindre parfois plusieurs ppb.

Il est de ce fait important de les détecter rapidement, à de très faibles teneurs (de l'ordre du µg/l) et de manière continue.

Permettant de répondre à ce besoin, le FLUOTOX est un appareil qui analyse l'évolution de mécanismes biologiques en fonction des variations de la qualité de l'eau.

## PRINCIPE UTILISE

Chez les végétaux, les herbicides bloquent les transferts électroniques au niveau de la membrane des thylacoïdes, de sorte que l'énergie solaire captée par les antennes chlorophylliennes ne participe plus à la chimie de la plante. De ce fait, cette énergie se transforme en chaleur et en rayonnement de fluorescence. L'amplitude de ce rayonnement indique le taux d'inhibition photosynthétique de la plante.

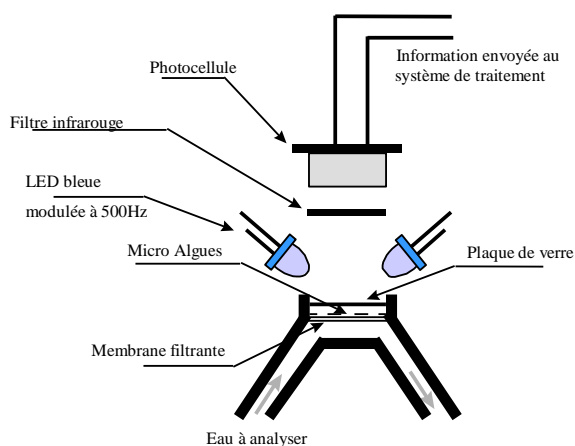
Pour les algues microscopiques chlorophylliennes, ce taux d'inhibition est fonction du type de micropolluants et de sa concentration dans l'eau.

Il s'agit donc d'exciter les algues avec une source lumineuse constante, puis de capter et de traiter la fluorescence émise.

## ORGANISATION DU BIOCAPTEUR

**Le biocapteur réalise l'excitation des algues microscopiques chlorophylliennes et fait le relevé de fluorescence.**

Il éclaire à l'aide d'une lumière bleue, modulée à 500Hz, des algues telles que les *Scenedesmus Subspicatus*. Ces algues immobilisées sur une membrane filtrante placée dans le courant d'eau à tester émettent de la fluorescence. Le signal de fluorescence recueilli par une photodiode associée à un filtre infrarouge est envoyé au système électronique.



## INTERFACE HOMME MACHINE

### La visualisation :

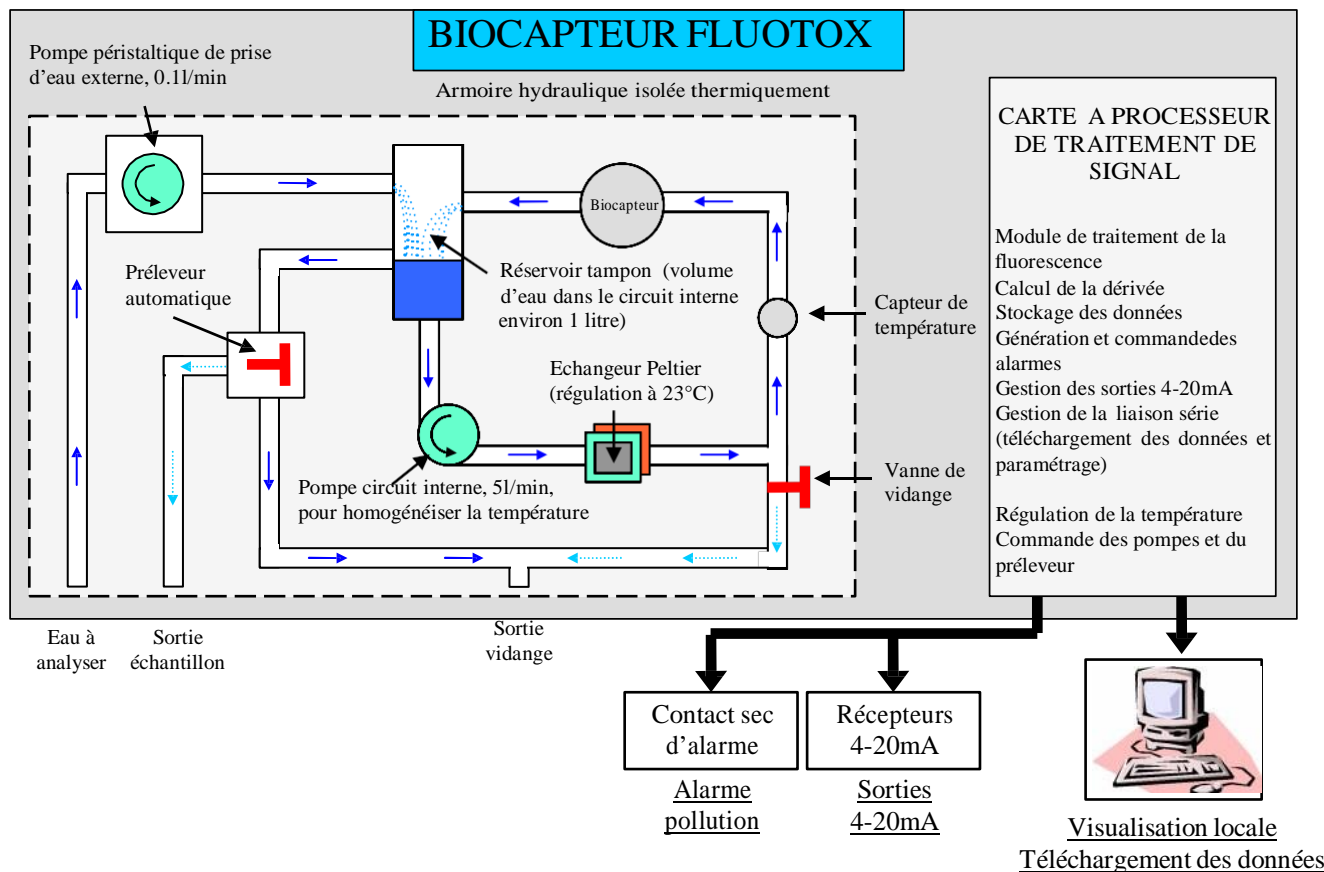
- des alarmes sur la face avant (voyants lumineux sur le bandeau de porte)
  - pollution
  - fuite d'eau
  - défaut température
- des données au fil de l'eau grâce aux logiciels d'interface (liaison série RS232 - PC de service)

### Les sorties :

- un contact sec s'enclenche en cas de dépassement du seuil de pollution (seuil défini par l'utilisateur)
- une liaison série RS232 permet le chargement des données et le paramétrage de l'appareil en local via le PC de service
- trois sorties 4-20mA donne en temps réel la fluorescence, sa dérivée et la température

# FLUOTOX

## SYNOPTIQUE DE L'INSTALLATION



## AVANTAGES

### Contrôle en continu :

- économie d'analyses systématiques et onéreuses
- suppression des traitements en aveugle
- limitation des temps de traitement par la visualisation en temps réel de la fin de la période de pollution
- détection de courts passages de pollution
- raccordement à votre supervision par les liaisons 4-20mA

### Facilité d'exploitation :

- contact sec et témoin lumineux en cas de présence d'herbicide (alarme pollution)
- préleveur d'échantillons intégré et couplé au contact sec d'alarme pollution
- sauvegarde sécurisée des données par batterie (pas de perte d'historique)
- autonomie de sauvegarde des données jusqu'à 15 jours selon période des enregistrements (1 à 5 minutes)

## ENTRETIEN

### Biosubstrat :

- transport sans précaution particulière (par la poste)
- conservation 6 mois au réfrigérateur
- remplacement effectué par un opérateur sans qualification particulière

### Entretien mensuel facile et rapide :

- une demi journée (2 heures d'entretien)
- remplacement des tuyauteries plastiques (pompes péristaltiques)
- changement des algues
- nettoyage des circuits hydrauliques

# FLUOTOX

## Partenaire industriel

Le milieu de l'environnement et celui de l'eau en particulier n'étant pas son domaine naturel, le département ARNATRONIC a fait appel à une société spécialiste du milieu.

## ASPECT Service Environnement

La société ASPECT Service Environnement intervient en tant que bureau d'études en Environnement et Laboratoire d'analyses d'eau agréé par le ministère de l'environnement (agréments 1, 2, 3, 4 et 6 pour 1998), pour :

- la réalisation et la maintenance des cultures d'algues,
- la réalisation de l'immobilisation des algues sur la membrane filtrante utilisée pour le FLUOTOX,
- la détermination et la quantification du ou des produits responsables de l'enclenchement d'une alarme du FLUOTOX,
- la réalisation de tests de sensibilité du FLUOTOX sur diverses molécules ou mélanges de molécules.

## **Annexe 6**

Exemples de biocapteurs électrochimiques pour la détection de pesticides (d'après Liu et al. (2012))

Pesticides	Bioreceptor	Detector	LOD	Detection time	Comments	Year/reference
Dimethyl 2,2-dichlorovinyl phosphate	AChE (E. eeI)	Amperometric	1 ppb	Incubation time 3 min	A disposable SPE modified with a nylon membrane containing AChE, combined with a miniaturized flow cell system, allowed fast measurements of pesticides in the environment on the spot	2000 [329]
Parathion	Parathion hydrolase ( <i>Pseudomonas</i> sp.)	Amperometric	1 ppb	1 min	The combination of parathion hydrolase modified carbon SPE with a microflow injection system and pulsed techniques allowed selective, highly sensitive, and continuous monitoring of parathion	2000 [288]
Chlorpyrifos-ethyl oxon	AChE (D. m)	Amperometric	0.1 ppb	Incubation time 20 min	The histidine-tagged AChE was immobilized on an SPE by a metal chelate, which allowed control of the orientation of the enzyme	2001 [217]
Chlorpyrifos-ethyl oxon	AChE (D. m)	Amperometric	2 ppt	Incubation time 20 min	Three immobilization methods were used for the fabrication of a reproducible and cheap SPE biosensor, including entrapment in a PVA-SbQ photopolymer, a sol-gel matrix, and immobilization by metal-chelate affinity	2002 [345]
Atrazine	Antibody	FET	0.2 ppb	20–25 min	The using of protein A-polyanion conjugates allowed antigens without additional treatment of specific antisera	2003 [343]
Paraoxon	AChE (E. eeI) and ChOx ( <i>Alcaligenes</i> sp.)	Amperometric	27.5 ppt	Incubation time 30 min	A ferro phthalocyanine chemically modified carbon paste electrode coupled with bienzyme in a dialysis membrane operated at a low applied potential (0.35 V) exhibited good stability (several months in a dry state at 4 °C).	2003 [287]
Atrazine	Tyrosinase	Conductometric	1 ppb	30 min	The conductometric tyrosinase biosensor showed a better LOD than that obtained using an amperometric tyrosinase biosensor. It did not need a reference electrode and can be driven at low voltage	2004 [289]
Dichlorvos	AChE (D. m)	Amperometric	22.1 ppt		The immobilization of AChE onto a polyethyleneimine-modified SPE increased storage and operational stability, but resulted in sensitivity loss	2004 [346]
Pirimiphos methyl	AChE (D. m) mutant	Amperometric	1 ppt	Incubation time 30 min	Engineering AChE B led to an increase in sensitivity and extraordinary high storage stability	2005 [33]
Paraoxon	AChE (E. eeI)	Amperometric	0.145 ppb	Incubation time 30 min	A low-cost disposable biosensor was developed on the basis of a thick film strip electrode modified with AChE-functionalized acid purified CNTs; CNTs improved the electrocatalytic activity toward thiocholine and functionalized the immobilization matrix for the enzyme	2005 [347]
Omethoate	Wild-type AChE (D. m) and mutant	Amperometric	21.3 ppb	48 min	The use of enzymes from different sources improved the LOD and allowed discrimination of the interferences from mercury and hypochlorite	2005 [348]



Pesticides	Biosensor	Detection	LOD	Detection time	Comments	Year/reference
Paraoxon	OPH	Amperometric	41.3 ppb	10 min	The OPH/CNT-based SPE showed higher sensitivity and stability owing to the accelerated oxidation of hydrogen peroxide at the CNT transducer	2005 [349]
Paraoxon	AChE	Amperometric	0.11 ppb	Incubation time 6 min	The LBL nanostructures on the CNTs surface provided a favorable microenvironment to maintain the bioactivity of AChE and the electrocatalytic activity of the CNT: lowered the oxidation overpotential. The biosensor integrated with a flow injection system was an ideal tool for online monitoring of pesticides	2006 [258]
Paraoxon	OPH and engineered <i>Moraxella</i> sp.	Oxygen electrode	27.5 ppb	5 min	Combining engineered <i>Moraxella</i> sp. and OPH with a Clark dissolved oxygen electrode allowed sensitive, selective, rapid, and direct determination of p-nitrophenyl-substituted OP compound	2006 [77]
Atrazine	MIP of MAAIEGDMA	Potentiometric	4.31 ppm	Response time less than 10 min	The response time was less than 10 min and the sensor could be used for more than 2 months without any divergence, but the LOD was high	2006 [153]
Paraoxon	OPH	Conductance	13.8 ppm	Real time	The biosensor based on OPH immobilized on a SWCNT electrode could serve as a simple, reliable, and low-cost biosensing platform	2007 [350]
Triazophos	AChE (E. coli)	Amperometric	1.57 ppb	Incubation time 12 min	AChE was immobilized on silica sol-gel film assembling MWCNT, in which the sol-gel matrix provided a biocompatible microenvironment and effectively prevented leakage of the enzyme and MWCNT. promoted electron transfer reaction.	2007 [351]
Monocrotophos	AChE (E. coli)	Amperometric	0.6 ppb	Incubation time: 10 min	Immobilization of AChE on AuNPs embedded in sol-gel film provided a biocompatible microenvironment	2007 [352]
Malathion	AChE (E. coli)	Amperometric	0.03 ppb	Incubation time 10 min	AChE immobilized on electrodeposited chitosan film mediated the generation and growth of Au NPs, which acted as a mediator improved the electron transfer between the enzyme in solution and the electrode	2007 [353]
Monocrotophos	AChE (E. coli)	Amperometric	0.3 ppb	Incubation time 8 min	Immobilization of AChE on a CdTe QD-AuNP composite modified chitosan microsphere interface favored the interfacial enzymatic hydrolysis reaction to form an electroactive substance and prevented enzyme molecule from leaking	2008 [257]
Dichlorvos	AChE	Amperometric	8 ppt	Incubation time 10 min	The AuNP-coated silicon nanowire enhanced the enzymatic activity and facilitated electron communication, thus significantly enhancing the sensor response	2008 [354]
Paraoxon	AChE (he)	Amperometric	0.55 ppb	20 min	Owing to the electrocatalytic property of CNT, the CNT-modified SPE integrated with a micro flow injection system shows high sensitivity	2008 [259]


Pesticides	Bio-receptor	Detector	LOD	Detection time	Comments	Year/reference
DNO	DNOC-imprinted copolymer of aniline and phenylenediamine	Amperometric	39.83 ppb		The microenzyme based DNOC-imprinted electrocopolymerized polymeric film was able to differentiate between DNOC and other closely related compounds	2008 [169]
Dichlorvos	AChE	Potentiometric	0.05 ppb	5 min	Enzyme was immobilized on a carboxylated PVC matrix at the outer layer of the ISE membrane. With the reactivation procedure, such a biosensor could be repeatedly used for at least 10 cycles	2009 [280]
Chlorophos	<i>Arthrobacter globifonilis</i> and AChE (be)	Potentiometric	0.26 ppb	Response time 200 s	The proposed biosensor combined the advantage of bacterial sensors with the sensitivity of inhibition-based AChE one. The LOD for chlorophos was similar to that achieved with enzyme-inhibition-based sensors	2009 [95]
Methyl parathion	AChE (E. coli)	Amperometric	1 ppb	Incubation time 10 min	The immobilization of AChE in a calcium carbonate-chitosan based network-like structure provided a favorable and biocompatible microenvironment	2009 [290]
Methyl parathion	AChE (E. coli)	Amperometric	2 ppb	Incubation time 10 min	AChE was immobilized onto an AuNP-polypyrrole nanostructure network-like nanocomposite, which not only provided a biocompatible microenvironment to maintain the bioactivity of AChE, but also exhibited a strong synergetic effect and thereby improved the sensing properties.	2009 [256]
Atrazine	PAAT-co-EDOT	Amperometric	21.57 ppb	Response time 10 s	The sensor based on atrazine-imprinted conducting polymer showed selectivity toward the atrazine family and a large detection range (0.22 ppb to 3235 ppm).	2009 [167]
Diazinon	AChE	FET	5 ppb	Incubation time 15 min	The extended-gate FET sensor with a ferrocene-modified gold electrode could detect enzyme-catalyzed products without using mediators	2010 [355]
Chlorpyrifos	AChE (be)	Voltammetric	51 ppb	Incubation time 10 min	Immobilization of AChE on an oxidized exfoliated graphite nanoplatelet-chitosan cross-linked composite resulted in high affinity, fast response, and high sensitivity	2010 [356]
Monocrotophos	AChE (E. coli)	Fourier transform continuous cyclic voltammetry	2.23 ppb	Response time less than 70 s	The combination of MWCNTs and AuNPs promoted the electron transfer and catalyzed the electrooxidation of thiocholine, resulting in high sensitivity and a fast response time (less than 70 s).	2010 [357]
Dimethoate	AChE (E. coli)	Amperometric	0.46 ppb	Incubation time 8 min	Enzyme was immobilized on a MWCNT-CD composite modified glassy carbon electrode	2010 [265]
Carbofuran	AChE	Amperometric	0.88 ppb	Incubation time 6 min	The AChE/dendrimer polyamidoamine-Au/C-T multilayer modified electrode provided a favorable environment for the immobilization of AChE	2010 [358]



Pesticides	Bioreceptor	Detector	LOD	Detection time	Comments	Year/reference
Methyl parathion	Methyl parathion degrading enzyme	Amperometric	1.0 ppb	10 min	and al. o improved the electrocatalytic characteristics and electron transfer speed Methyl parathion degrading enzyme was immobilized on an AuNP/MWCNT electrode through a CdTe QD covalent attachment This approach allowed loading of more enzymes through CdTe QDs and resulted in a remarkably low LOD owing to synergistic effects of MWCNTs and AuNPs. The biosensor showed high selectivity toward pesticides containing a P-S bond and can be potentially reused and is suitable for continuous monitoring	2010 [281]
Chlorpyrifos	PAT/AuNP	Amperometric	115.69 ppb	Incubation time 10 min	The combination of surface molecular self-assembly with electropolymerization of p-aminothiophenol on the larger area of an AuNP-modified electrode produced a high ratio of imprinted sites and improved the sensitivity and selectivity	2010 [152]
Paraoxon	BChE	Amperometric	1.38 ppb		The combination of magnetic bead immunocapture-based enzyme activity assay and competitive immunoassay provided a sensitive, rapid, and portable method for biomonitoring of OP compounds	2011 [269]
Carbaryl	AChE (E. coli)	Amperometric	0.7 ppb	Incubation time 2 min	The immobilized AChE on a CdS-decorated graphene nanocomposite possessed higher enzymatic activity and high affinity for the substrate, and the integration of the CdS-graphene nanocomposite made the carbaryl contact with the active site of AChE much more easily, thus reducing the incubation time (2 min)	2011 [268]
Pamthion	OPH	Amperometric	145.6 ppb	-10 min	Time-resolved differential pulse stripping voltammetry with a disposable proton-selective sensor allowed the discriminative detection of both pamthion and methyl pamthion	2011 (359)
Monocrotophos	AChE	Amperometric	0.05 ppb	Incubation time 10 min	Mesoporous silica foam functioned as both an enzyme immobilization matrix and a solid phase extraction material for the preconcentration of target molecules; The resulting biosensor showed extremely high sensitivity and LOD	2011 [360]
Trichloropyrindinol	Anti-trichloropyrindinol	Amperometric	0.1 ppb	10 min	The portable immunochromatographic electrochemical biosensors, which combined an electrochemical immunosensor with a lateral-flow test strip, allowed accurate biomonitoring of the metabolite trichloropyrindinol in plasma	2011 [97]

## **Annexe 7**

## Quelques exemples de méthodes écotoxicologiques mises en œuvre au laboratoire

Nom de la méthode ou organisme sentinelle utilisé	Méthode	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Test écotoxicologique sur un nématode modèle	Norme NF ISO 10872 (2010) : Détermination de l'effet toxique d'échantillons de sédiments et de sol sur la croissance, la fertilité et la reproduction de <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nématodes)	sol	
Tests d'effets (mortalité et reproduction) chez le ver de Terre <i>Eisenia fetida</i> et <i>Eisenia andrei</i>	Détermination de la toxicité aiguë entraînant la mortalité des vers de terre, NF EN ISO 11268-1  Détermination des effets sur la reproduction, ISO 11268-2	Sol et déchets	Méthodes proposées par le BE Bio-Tox ( <a href="http://www.bio-tox.fr/">http://www.bio-tox.fr/</a> ) Elles peuvent être exigées / proposées dans le cadre de l'évaluation de la toxicité des substances chimiques nouvelles et existantes (au niveau européen), l'autorisation de mise sur le marché de produits phytosanitaires, l'évaluation du caractère dangereux d'un déchet : critère d'écotoxicité (H14), l'évaluation de l'efficacité de procédés de traitement des effluents phytosanitaires en vue de leur validation, et dans le cadre de diverses démarches de type expérimentales (par exemple Commission AFNOR en vue de l'élaboration d'une norme spécifique aux matériaux biodégradables destinés à l'agriculture)
Détermination de l'inhibition de la bioluminescence de la bactérie marine <i>Vibrio fischeri</i>	Test MICROTOX® en phase liquide, NF EN ISO 11348-3. Il existe d'autres systèmes commercialisés (BioTox, LumiStox, ToxAlert etc.)	Cette norme est applicable aux effluents aqueux industriels ou urbains, aux lixiviats, aux eaux douces (de surface ou souterraines) et aux eaux marines et saumâtres. Un essai adapté aux échantillons solides est également utilisé (notamment par Environnement Canada pour calculer l'indice de toxicité des sédiments SED-Tox)	 <p>Luminomètre compatible avec la norme NF EN ISO 11348-3 pour un usage au laboratoire et sur le terrain.</p>
Détermination de l'inhibition de la bioluminescence de la bactérie marine <i>Vibrio fischeri</i> Test avec protozoaires ciliés ( <i>Tetrahymena thermophila</i> ) Test avec rotifères : <i>Brachionus calyciflorus</i> , <i>B. plicatilis</i>		Eaux (usagées, effluents et surfaces)	

Nom de la méthode ou organisme sentinelle utilisé	Méthode	Matrice et milieu concernés	Type de pollution concernée
Test avec crustacés : Thamnocephalus playurus <i>Daphnia magna</i> <i>S. pulex</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Artemia franciscana</i> ...	Test de toxicité aiguë ou chronique	Eaux (usagées, effluents et surfaces) ou des sédiments d'eau douce	
Test avec des micro-algues : <i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Phaeodactylum tricomutum</i>	Test de toxicité chronique	Eaux (usagées, effluents et surfaces) ou en milieu marin et estuarienD selon l'espèce	
Tests avec plantes supérieures	Vérification de l'effet sur la "germination" et la "première croissance" de 3 sortes de plantes (1 monocotylédone et 2 dicotylédones)	Sols après restauration	
<b>Mesure de biomarqueurs*</b>	Tests de génotoxicité Test des micronoyaux Test des comètes	Sol, Eau	

\* Les biomarqueurs d'effet correspondent à des cibles moléculaires qui, lorsqu'elles sont atteintes, signifient que les mécanismes de défense ou de détoxification de l'organisme n'ont pas été suffisamment efficaces pour contrer l'action néfaste d'un xénobiotique (ex. : capacité de phagocytose en immunotoxicité, dommages à l'ADN en génotoxicité...). Les conséquences peuvent être parfois irréversibles, entraînant à terme la mort de l'animal ou bien une incapacité à se reproduire. De tels effets peuvent par la suite altérer la structure même des populations et donc des écosystèmes.