

1.3 – Utilisation des mésocosmes pour l'évaluation préalable de risque : état des lieux et perspectives

Sources : Olivier Perceval, Onema, Le Croisic 2009, Véronique Poulsen, ANSES, Le Croisic 2009 ; Anne Bassères, Total, Le Croisic 2009

Le domaine de l'évaluation préalable des risques écotoxicologiques a été développé dans les années 1980, suite à une prise de conscience collective de la nécessité d'évaluer l'impact des activités humaines sur les écosystèmes. Cette nécessité s'est traduite dans les politiques publiques, au niveau européen, par l'adoption de mesures et de dispositions légales destinées à encadrer la mise sur le marché des substances toxiques de synthèse : c'est le cas depuis les années 1990 pour les produits phytopharmaceutiques (directive 91/414) et les biocides (98/8), et plus récemment pour les substances chimiques avec la directive REACH – système d'enregistrement des produits chimiques qui ne constitue pas une autorisation de mise sur le marché, mais exige une évaluation préalable des risques comparable à celle pratiquée dans le domaine des pesticides.

Cette section présente en introduction les modalités techniques de cette évaluation de risque, et le rôle qu'y jouent aujourd'hui les études en mésocosmes. Elle illustre cette utilisation par un bilan quantitatif de l'apport des mésocosmes dans le cas de l'évaluation réglementaire des produits phytosanitaires, puis par un focus sur l'usage qu'en fait, dans un autre secteur d'activité, le groupe Total Petrochemicals. À la lumière de cet état des lieux, sont identifiés en conclusion quelques besoins émergents de ce domaine de l'évaluation de risque *a priori*, pour lesquels les études en mésocosme pourraient constituer des approches pertinentes.

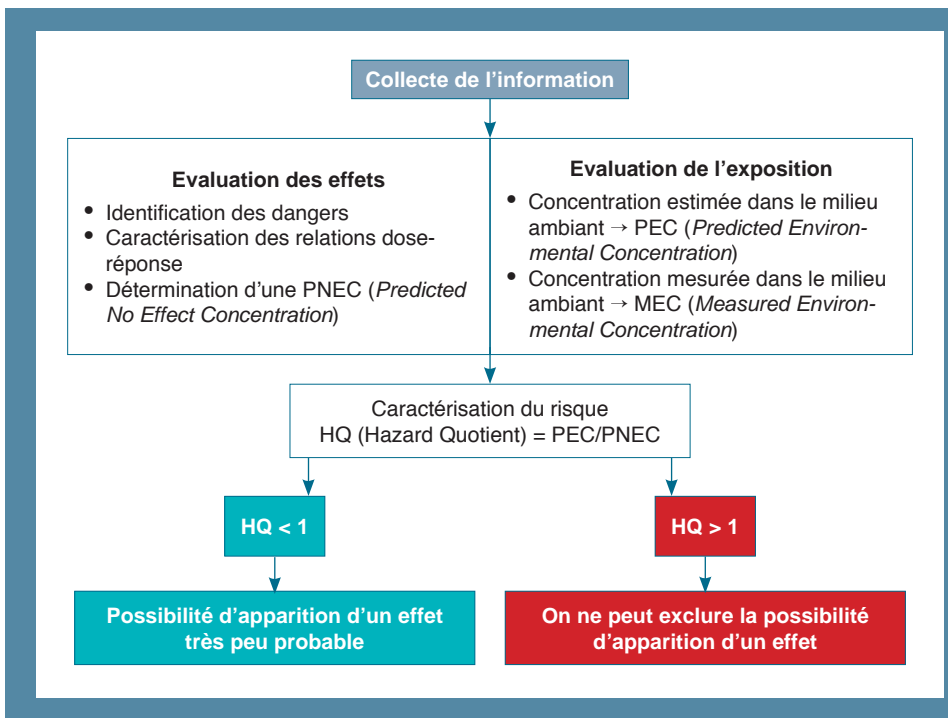
« PNEC » et mésocosmes : mode d'emploi

L'évaluation du risque écologique peut être définie comme « un processus visant à évaluer la probabilité que

des impacts écologiques délétères se produisent ou puissent se produire à la suite d'une exposition à un ou plusieurs agents de stress » (US EPA 1992). Pour les milieux aquatiques, elle se base sur la détermination de la concentration environnementale prédite ou mesurée (PEC : *Predicted Environmental Concentration* ou MEC : *Measured Environmental Concentration*) du contaminant dans une masse d'eau précise, et sa comparaison avec la concentra-

tion sans effet prévisible sur l'environnement (PNEC) de ce contaminant. Le rapport PEC/PNEC est défini comme le quotient de danger de ce contaminant (HQ : *Hazard Quotient*). S'il est inférieur à 1, la possibilité d'apparition d'un effet est très peu probable ; s'il est supérieur à 1, on ne peut pas exclure la possibilité d'apparition d'un effet sur l'environnement (fig. 4). Les PEC, qui représentent le niveau global d'exposition des organismes aquatiques

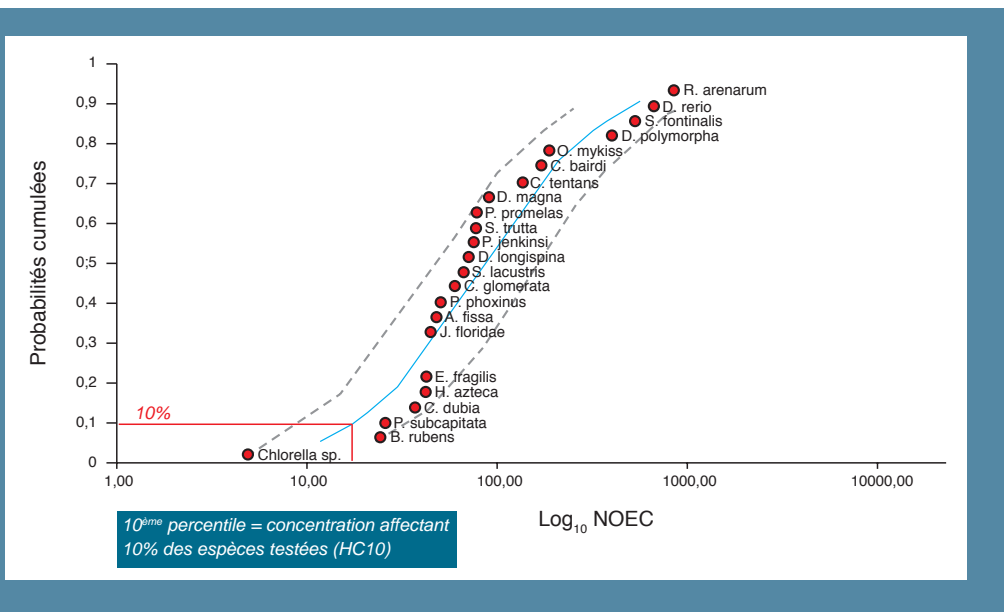
Figure 4 : Principes généraux de l'évaluation du risque environnemental (d'après EC 2003. *Technical guidance document on risk assesement*).



à une substance par leur milieu de vie, sont généralement estimées à partir de modèles plus ou moins élaborés. Les PNEC sont quant à elles déterminées à partir de données d'écotoxicité à court et à long terme disponibles pour chaque substance. Les paramètres de toxicité aiguë les plus couramment employés sont la CL50 (concentration provoquant la mortalité de 50 % des individus exposés) et la CE50 (concentration effective qui produit un effet sur 50% des individus exposés). Les effets chroniques sont quant à eux caractérisés

à l'aide de la NOEC (*No Observed Effect Concentration* – plus forte concentration testée sans effet observé) et/ou de la CE10 (concentration effective qui produit un effet sur 10 % des individus exposés), et plus rarement de la NOEAEC (*No Observed Ecologically Adverse Effect Concentration* – concentration à laquelle un effet partiel a été observé, mais qui a permis un retour des populations à un état comparable à celui des témoins à la fin de l'essai), paramètre typiquement acquis dans les expériences menées en mésocosmes.

Figure 5 : Distribution de la sensibilité des espèces à un contaminant donné (SSD).



Si ces données sont en nombre suffisant, une méthode probabiliste basée sur l'analyse de la distribution de la sensibilité des espèces à un contaminant donné (*Species Sensitivity Distribution*, SSD) peut être utilisée, à condition que cette distribution suive une fonction de distribution théorique connue (Figure 5). Dans le cas contraire, une approche déterministe utilisant des facteurs d'extrapolation (également désignés sous le terme facteurs d'incertitude) est appliquée à la valeur de NOEC ou de CE10 la plus faible. Ces facteurs de sécurité viennent compenser l'absence de connaissances sur l'écotoxicité de la substance en question : effets toxiques sur le long terme, effets toxiques sur d'autres espèces potentiellement plus sensibles, extrapolation des effets en milieu naturel à partir des données acquises en laboratoire, absence d'information sur l'ensemble du réseau trophique, etc. Une démarche d'acquisition des connaissances peut alors être engagée pour réduire ce facteur d'extrapolation (notamment pour des substances présentant un intérêt économique particulier ou revêtant un enjeu environnemental ma-

jeur), en réalisant des tests d'écotoxicité chronique complémentaires ou en procédant à des études en mésocosmes (par ex., Lepper 2005).

En pratique, l'utilisation des mésocosmes dans ce cadre réglementaire précis impose le respect de plusieurs critères génériques :

- l'exposition à un contaminant donné doit être caractérisée de manière adéquate. Un pré-requis à l'utilisation des données acquises en mésocosmes est que la concentration du polluant « testé » soit mesurée pendant toute la durée de l'expérience afin d'en déduire un niveau moyen d'exposition. Les effets toxiques observés doivent être reliés à ces niveaux moyens d'exposition ;

- le mode d'application des contaminants dans les mésocosmes doit être représentatif des modes de transferts attendus de la substance étudiée dans les milieux. Par exemple, dans le cas des pesticides, les études utiliseront les préparations employées en agriculture, en s'attachant à reproduire des doses, des durées et des fréquences d'exposition réalistes du point de vue des itinéraires techniques préconisés ;

– les mésocosmes doivent contenir au minimum les espèces les plus sensibles identifiées par les essais pré-alables d'écotoxicité menés en laboratoire. Ils doivent en outre présenter une biodiversité suffisante à chaque niveau de la chaîne trophique ;

– les mésocosmes doivent être placés dans des conditions environnementales représentatives de la ou des zones où les contaminations sont prévisibles ;

– selon la substance étudiée, les études doivent permettre un suivi des concentrations en contaminant dans les différents compartiments du mésocosme, y compris dans les sédiments. En l'absence de données sur ce compartiment, il est en effet délicat d'interpréter les résultats, notamment dans le cas de substances s'adsorbant rapidement sur les particules en suspension ou les sédiments.

Phytosanitaires et mésocosmes : une utilisation en routine

Comme évoqué précédemment (1.2), les pesticides constituent, de loin, la première famille de toxiques étudiés en mésocosmes en écotoxicologie (42 % des

publications). Cette prédominance est à relier avec les travaux qui ont permis d'aboutir à l'utilisation en routine de ces outils dans les procédures d'homologation des substances phytosanitaires.

Un bilan quantitatif de ce type d'utilisation des mésocosmes a été effectué en 2007, dans le cadre du groupe de travail AMPERE (*Aquatic Mesocosms in Pesticide Registration in Europe*, Alix et al. 2007) Cet exercice a été basé sur l'examen des dossiers relatifs aux substances actives inscrites à l'annexe 1 de la directive 91/414 : pour chaque substance, il a été vérifié s'il existait une (ou plusieurs) étude en mésocosme dans le dossier, et si celle-ci avait été utilisée dans l'évaluation de risques.

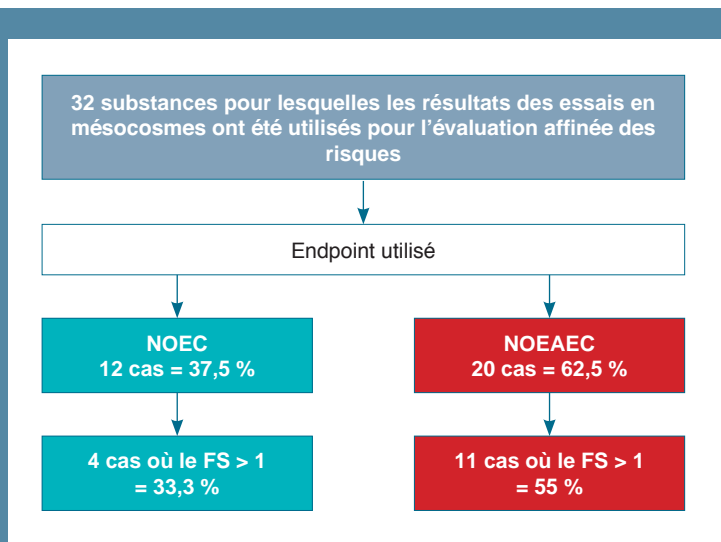
Au niveau européen, sur les 157 substances inscrites à l'annexe 1 de la directive 91/414, 36 présentaient dans leur dossier d'homologation au moins une étude en mésocosmes. Parmi celles-ci, 32 ont été utilisées en évaluation des risques – laquelle constitue donc, et de loin, la principale utilisation des études en mésocosmes soumises dans des dossiers européens.

L'examen des effets biologiques mesurés (ou « endpoints ») proposés suite à ces études (fig. 6) montre que dans la majorité des cas (20 sur 32), la NOEAEC a été préférée à la NOEC. En contrepartie, le choix de cette valeur de référence moins conservatrice s'est assorti de facteurs de sécurité plus souvent supérieurs à 1.

Le groupe de travail AMPERE s'est également intéressé à l'utilisation des études en mésocosmes par les Etats membres de l'Union Européenne, dans le cadre

des travaux liés aux autorisations de mise sur le marché national. En France, plus de la moitié des 36 substances concernées ont donné lieu à une étude en mésocosme. La fréquence est de 78 % en Allemagne et 62 % au Royaume-Uni. L'analyse des endpoints retenus montre, dans tous les cas, une nette prédominance des NOEAEC. Enfin, sur le choix des facteurs de sécurité, on peut retenir qu'ils sont plus souvent supérieurs à 1 dans les études nationales que dans celles utilisées au niveau européen.

Figure 6 : Etudes en mésocosmes pour les dossiers européens d'évaluation de risques des pesticides listés dans l'annexe I de la directive 91/414 : choix des endpoints utilisés et des facteurs de sécurité.



Exemple d'utilisation par l'industrie : Total et les « rivières pilotes »

L'évolution du contexte réglementaire (règlement REACH) place les industriels face à de nouveaux défis liés à l'évaluation de risque préalable des substances qu'ils souhaitent commercialiser. Outre ces dispositions obligatoires, les nouvelles exigences liées à la surveillance de la qualité des masses d'eau (DCE) constituent également, pour les acteurs indus-

triels, une forte incitation à s'impliquer de manière proactive dans le développement de nouvelles méthodes de suivi et de mesure d'impact des rejets.

C'est dans ce contexte que le groupe Total s'est doté dès 2000, sur son site de Recherche & Développement de Mont-Lacq (Sud-ouest de la France) d'un ensemble de 16 canaux d'eau courante (40 m de long, 0,5 m de large et 0,50 m de profondeur), alimenté en eau douce par le Gave de Pau (photo ci-dessous).



Ces mésocosmes, ou « rivières pilotes », ont été utilisés depuis pour divers travaux, menés avec des organismes de recherche ou des gestionnaires de l'eau. Entre 2000 à 2003, un programme a ainsi été conduit par Total en partenariat avec l'agence de l'eau Adour-Garonne, avec pour objectif la validation de méthodes alternatives pour la surveillance des masses d'eau. Ces travaux, basés sur l'utilisation de biomarqueurs d'exposition chez le bivalve d'eau douce *Corbicula fluminea*, ont contribué à une étude d'évaluation de risque pour l'AMCA (acide monochloracétique), dont les résultats sont cités par le *European Chemical Bureau* dans son dossier d'évaluation des risques publié en 2003.

Actuellement, cette plateforme expérimentale est également utilisée par Total, en lien avec l'INERIS, pour une étude d'évaluation de risque menée sur le xylène. Cette substance a déjà fait l'objet d'une évaluation sur la base d'essais de laboratoire, mais le nombre limité de tests d'écotoxicité a conduit à l'adoption d'un facteur d'extrapolation de 100 pour la PNEC. L'étude en mésocosme, en cours, pourrait

fournir des données pertinentes sur le devenir et l'impact de cette substance à des niveaux élevés d'organisation biologique et permettre ainsi de réduire la valeur du facteur d'extrapolation associé.

Besoins émergents en évaluation des risques et perspectives

Aujourd'hui, les méthodologies associées aux bioessais utilisés dans le cadre de l'évaluation du risque chimique sont globalement bien établies, codifiées au niveau international et consignées dans de nombreux guides techniques.

Cependant, de nombreuses questions restent en suspens. Ainsi, dans le cas des substances peu solubles et/ou instables dans l'eau (PCB, HAP), qui se retrouvent le plus souvent associées à de la matière organique vivante ou détritique, l'effort de standardisation des essais d'écotoxicité doit être poursuivi (Breitholz *et al.* 2006). En effet, l'interprétation des données des tests « classiques » réalisés en laboratoire, utilisant ces substances en phase dissoute, peut se révéler délicate : l'effet toxique recherché n'apparaît bien souvent pas dans la gamme



de solubilité aqueuse des produits en question. De plus, les caractéristiques de ces substances rendent problématique le maintien de l'exposition des organismes à un niveau nominal pendant toute la durée des expériences.

Face à ces difficultés, certaines pratiques de laboratoire ont été proposées (utilisation de matériaux de laboratoire alternatifs, préconditionnement de la verrerie, diminution du rapport biomasse de l'organisme testé/volume du milieu d'exposition, etc., OECD 2000), et des approches de modélisation basées sur l'équilibre de partage ont été développées. Malgré ces avancées, la majorité des bioessais actuellement utilisés en routine ne semblent pas donner de résultats fiables pour ces substances hydrophobes ou instables dans l'eau.

De manière plus générale, le volet « exposition » reste le principal point faible de l'évaluation du risque, au regard notamment de la variété et de l'hétérogénéité des milieux naturels ainsi que de la diversité des voies d'accumulation des contaminants. À ce titre, les substances émergentes (perturbateurs endocriniens, produits pharmaceutiques, nanoparticules...) constituent un vaste champ d'étude en écotoxicologie et en évaluation des risques.

Les sections qui précèdent ont permis de préciser dans quelle mesure les méso-

cosmes peuvent constituer un outil pour l'évaluation de risque et d'illustrer leur utilisation actuelle dans le cadre réglementaire.

pourraient être mis à profit pour une meilleure compréhension des impacts des substances émergentes. ■

De la même façon qu'ils ont contribué à compléter les connaissances en écotoxicologie, notamment pour la définition de valeurs de référence (PNEC) fiables et réalistes pour de nombreux produits, les mésocosmes



© G. Balvay – INRA