

1

Les mésocosmes : un outil éprouvé pour



l'écologie et

l'écotoxicologie



L'appropriation progressive des systèmes expérimentaux de type « cosmes » en écologie et en écotoxicologie peut être retracée, en première analyse, par une approche bibliométrique. Les résultats de cette démarche, menée pour les termes *microcosm*, *mesocosm*, *macrocosm* et *enclosure* sur la base des articles enregistrés dans le « *Web of Science* », permettent de dresser quelques constats préliminaires (Lacroix 2009) :

- l'emploi des termes associés aux « cosmes » apparaît graduellement dans les années 1970 et 1980, et connaît une progression très rapide au cours des années 1990 ;
- dès la fin des années 1980, l'utilisation de ces termes apparaît beaucoup plus importante en écotoxicologie qu'en écologie ;
- les années 2000 se caractérisent par une stagnation de l'emploi des termes associés aux cosmes, voire un fléchissement de leur utilisation en écotoxicologie.

Ces éléments quantitatifs sont à relier aux évolutions des outils et des questionnements au sein de chaque discipline. Cette première partie propose d'abord une analyse rétrospective et critique de l'utilisation des mésocosmes en écologie, puis en écotoxicologie. Elle dresse ensuite un état des lieux de l'utilisation des mésocosmes, en France, dans le domaine de l'évaluation des risques écotoxicologiques.

1.1 – Écologie aquatique et mésocosmes : notions préliminaires

Source : Gérard Lacroix, CNRS, Le Croisic 2009

De nombreuses questions relevant de l'écologie scientifique ont bénéficié de l'apport des mésocosmes. Plusieurs décennies d'utilisation de ces outils ont permis d'en éprouver la pertinence et les avantages, mais aussi de leur opposer de nombreuses interrogations et critiques. Le tableau ci-dessous propose une vue synthétique des avantages et limites classiquement prêtés à ce type d'approche.

À la lecture de ce tableau, il

est intéressant de constater que ce qui apparaît dans certains cas comme une limitation des mésocosmes peut être perçu dans d'autres comme une qualité. Ces appréciations contradictoires témoignent du caractère largement subjectif de la perception de l'outil par la communauté scientifique : les avantages et limites des mésocosmes dépendent d'abord du problème étudié. Le constat conduit à formuler plusieurs réflexions de portée

Tableau 1 : Avantages et inconvénients classiquement prêtés aux mésocosmes.

Avantages	Inconvénients/limites
– Capacité à simuler des conditions environnementales assez réalistes	– Caractère artificiel
– Prise en compte simultanée de différents niveaux trophiques	– Taille trop réduite
– Complexité suffisante pour assurer le maintien à terme de communautés fonctionnelles	– Importance des effets parois
– Capacité à mettre en évidence des mécanismes assez fins	– Importance des processus de sédimentation
– Gestion de plans factoriels complexes et analyse d'effets multifactoriels	– Manque de réalisme écologique
– Réplicabilité des traitements	– Faible représentativité
– Possibilité d'échantillonner les mêmes populations au cours du temps	– Prise en compte de fractions d'écosystèmes uniquement
– Facilité de mise en place des systèmes expérimentaux	– Faible rapport signal/bruit
– Rapidité d'acquisition des résultats	– Faible durée des expériences
– Facilité de publication des résultats	

générale sur l'utilisation de ces outils en écologie aquatique.

Réalisme et répliquabilité

La question récurrente du réalisme et de la répliquabilité des mésocosmes doit être abordée sous l'angle d'un nécessaire compromis entre l'ambition de reproduire au mieux la complexité du monde réel et la capacité à analyser les processus en jeu, c'est-à-dire à révéler un effet.

Dans cette optique, les études en mésocosme pâtissent surtout de la forte variabilité intra-traitement et du faible niveau de répliquabilité des expériences (Eberhardt & Thomas 1991, Caquet *et al.* 2001). Pour résoudre cette difficulté, on peut :

- augmenter l'amplitude de l'effet par des manipulations dépassant la gamme naturelle de variation du facteur étudié, ce qui rend l'exploitation des résultats davantage sujette à caution ;
- tenter de réduire la variabilité intra-traitement – mais cet effort de standardisation des répliqués atteint rapidement ses limites.

L'autre solution, la plus raisonnable du point de vue

statistique, consiste à augmenter le nombre de répliqués. Elle est aussi la plus coûteuse en moyens financiers et matériels.

Biais liés aux enceintes

Les effets liés aux enceintes, tels que le développement de périphyton sur les parois, l'impact sur la distribution spatiale des organismes, ou une sédimentation accrue de la matière particulaire, constituent un point faible fréquemment souligné des mésocosmes (Bloesch *et al.* 1988, Carpenter 1996). Cette critique doit être relativisée en rappelant que le but des expérimentateurs est rarement de simuler un écosystème naturel donné, mais plutôt de comprendre les processus en jeu dans les écosystèmes manipulés. Un mésocosme est, en lui-même, un écosystème : pour s'affranchir des biais liés aux enceintes, il est possible de considérer la sédimentation ou le développement du périphyton comme des propriétés de cet écosystème. Par ailleurs, certains mésocosmes disposent de systèmes de brassage permettant de limiter ces effets. Enfin, l'augmentation de la taille du cosme permet de réduire efficacement l'effet « enceinte ».

Taille des mésocosmes

Il n'y a pas de taille idéale pour un mésocosme : tout dépend de la question posée, et le mieux n'est pas nécessairement le plus grand. Un mésocosme doit cependant être suffisamment grand pour fonctionner sur la durée sans apports extérieurs (autres que naturels) et présenter une diversité d'organismes suffisante pour que s'amorcent rapidement les processus écologiques fondamentaux. En pratique, il existe fréquemment un compromis, à moyens égaux, entre le nombre des mésocosmes mis en place et leur taille.

Une méta-analyse conduite sur plus de 150 modèles expérimentaux d'écosystèmes lotiques (Belanger 1997) a conclu que la taille du mésocosme n'avait de manière générale pas d'effet significatif sur la diversité, l'abondance et la richesse des communautés d'algues ou d'invertébrés. Dans la plupart des cas, des enceintes de quelques mètres cubes à quelques dizaines de mètres cubes ont permis des progrès considérables des connaissances. En revanche, l'analyse de certains processus, tels que les mouvements des masses d'eau ou la régulation des communautés piscicoles, est

peu compatible avec de petites échelles spatiales et des pas de temps courts. Pour ces questions, l'emploi de très grands systèmes expérimentaux (plusieurs milliers de mètres cubes) doit être encouragé – le facteur limitant étant ici le coût de leur mise en œuvre.

Effets de l'isolement et durée des expériences

Les mésocosmes sont par définition des systèmes clos, ce qui peut constituer en soi une limite à leur utilisation dans la durée. C'est le cas en particulier pour les rivières artificielles, le plus souvent dépourvues de tout apport provenant de l'amont et/ou de l'aval ou bien encore des berges : en l'absence d'apports exogènes réguliers, ces systèmes voient leur productivité et la diversité de leurs communautés décroître rapidement, ce qui limite la durée des études. Dans les mares expérimentales, une baisse progressive de la diversité et de la productivité biologique, ainsi qu'un accroissement de la consanguinité chez certaines espèces peut également se produire. Enfin, dans le cas des enceintes, les phénomènes de turbulence

réduite et l'isolement par rapport au reste de l'écosystème conduisent à un déficit en nutriments et à une baisse de l'abondance et de la diversité des différentes communautés, planctoniques en particulier : l'évolution de la portion isolée diverge alors de celle du milieu environnant.

Des mésocosmes aux écosystèmes naturels

La poursuite de ce raisonnement sur l'intégration de la complexité et du réalisme écologique conduit à envisager la manipulation

des écosystèmes naturels. D'un intérêt scientifique évident, de telles manipulations sont heureusement extrêmement encadrées – surtout si elles sont susceptibles de conduire à une dégradation de l'écosystème. Une autre démarche pourrait s'avérer particulièrement pertinente : la mise en œuvre d'approches d'ingénierie écologique sur des écosystèmes très dégradés, qui permettraient de mettre les théories à l'épreuve du monde réel, dans une perspective directe d'amélioration des systèmes.



© INRA Rennes

Trois exemples d'apports des mésocosmes en écologie

– Différentes expériences de laboratoire ont montré que certaines algues répondent à la présence d'organismes zooplanctoniques herbivores par des modifications de morphologie (mise en colonies, apparition d'épines, etc.). La caractérisation de ces modifications, difficile à obtenir dans des conditions de culture souvent éloignées des conditions naturelles, est un cas typique d'utilisation des mésocosmes. C'est ainsi par exemple qu'il a été démontré (Hamlaoui-Rézig 2001) que la chlorophycée *Desmodesmus quadricauda* forme des colonies avec l'augmentation de l'abondance des microcrustacés herbivores. De même, le dinoflagellé *Ceratium hirundella*, qui se cultive très difficilement en laboratoire, répond à des variations de structure des réseaux trophiques par des changements dans le nombre d'épines postérieures. L'utilisation des mésocosmes a permis de préciser les facteurs de survenue de ces changements en plaçant les microorganismes dans différentes conditions environnementales (Hamlaoui *et al.* 1998).

– L'hypothèse des cascades trophiques (Carpenter *et al.* 1985, Carpenter & Kitchell 1993) stipule que, pour un même niveau d'apports en nutriments, une augmentation de la charge en poissons planctonophages devrait induire une réduction du zooplancton herbivore de grande taille et une augmentation de la masse algale. Longtemps contestée (De Melo *et al.* 1992), cette théorie a finalement été fortement appuyée par une méta-analyse poussée (Brett & Goldman 1996), sur la base de 54 expériences menées en mésocosmes et macrocosmes.

– Les études basées sur des réseaux fonctionnels trop simplifiés sont limitées par la complexité des interactions trophiques, la richesse en espèces et la grande importance de l'omnivorie dans les écosystèmes naturels. Une alternative consiste à considérer l'ensemble des espèces, *via* une analyse topologique des réseaux trophiques basée sur l'existence ou non d'une relation mangeur-mangé entre les différents taxons. Cette démarche s'appuie avantagement sur l'utilisation de mésocosmes, qui permettent la comparaison des effets de différents traitements sur les réseaux trophiques. Cette approche a par exemple été utilisée pour mettre en évidence le fort impact des comportements de deux poissons planctonophages (*Lepomis macrochirus* et *Dorosoma cepedianum*) sur l'architecture des réseaux trophiques, le degré de connectivité, l'omnivorie ou encore la longueur des chaînes alimentaires (Lazzaro *et al.* 2009).

1.2 – Utilisation des mésocosmes en écotoxicologie : un outil éprouvé

Source : Thierry Caquet, Inra, Le Croisic 2009

Mis en œuvre à l'origine pour des utilisations en écologie, les écosystèmes aquatiques artificiels se sont rapidement imposés comme des outils expérimentaux de choix pour l'évaluation du devenir et des effets des produits chimiques dans les milieux aquatiques. La section qui suit propose successivement une typologie de ces outils et de leurs usages en écotoxicologie, et aborde certains aspects pratiques de leur utilisation propres à cette discipline. Elle se conclut par une réflexion sur la place et les apports des mésocosmes en écotoxicologie aquatique.

Typologie des outils

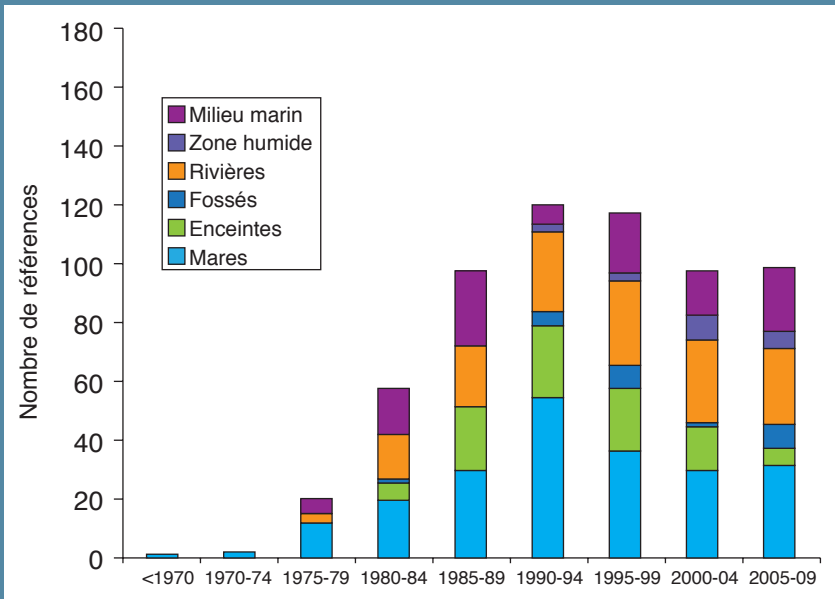
Une analyse de la littérature internationale sur les approches expérimentales en écotoxicologie utilisant des mésocosmes a été menée, par des requêtes vers les bases de données *CAB Abstracts* et *Web of Science*, pour les années 1975 à 2009. Aux références obtenues par la recherche des mots-clés (*mesocosm, artificial stream, eclosure, ditch...*) ont été soustraites toutes

celles relatives à des études en intérieur, ou à des travaux en écologie. La liste de publications ainsi constituée regroupe 769 références, dont une majorité de publications primaires – publications originales présentant des données inédites. Non exhaustive, cette liste peut cependant être considérée comme une bonne base pour une analyse statistique de l'utilisation des mésocosmes en écotoxicologie aquatique.

La figure 1 (page suivante) présente l'évolution au cours du temps du nombre de références en écotoxicologie mentionnant des systèmes de type mésocosmes, en distinguant les différents types d'outils utilisés.

C'est à partir des années 1980 et surtout 1990 que les mésocosmes ont été utilisés de façon intense en écotoxicologie, avec une apogée entre 1990 et 1995. Depuis, ils continuent à apparaître régulièrement, à un rythme moyen de 20 publications annuelles, en léger déclin, ce qui peut s'expliquer par une banalisation de ces outils en

Figure 1 : Typologie des outils Mésocosmes (d'après T. Caquet).



écotoxicologie, conduisant à un moindre emploi du mot « mésocosme » (ou dénominations apparentées) dans les titres des publications.

Pour ce qui est des études menées sur des écosystèmes d'eau douce, les mares – écosystèmes préexistants ou systèmes construits spécifiquement – sont les mésocosmes les plus utilisés (43,2 %), suivies par les rivières artificielles (29,4 %). Ces systèmes d'eau courante, qui ont une représentativité écologique limitée lorsqu'ils ne sont pas con-

nectés à d'autres éléments du bassin versant, restent cependant bien adaptés au suivi de la réponse de divers organismes à la présence de polluants.

Parmi les enceintes, on distingue les enclos limniques ou *limnocorrals* – enceintes disposées en pleine eau, en contact ou non avec les sédiments – et les enclos littoraux, d'une profondeur maximale de 2 à 4 m, qui isolent une portion de la zone littorale. Les fossés expérimentaux (*ditches*), très utilisés aux Pays-Bas, peuvent

être considérés selon les cas comme des systèmes lotiques ou lentiques. Enfin, il faut signaler l'émergence progressive des zones humides artificielles comme outil de recherche en écotoxicologie.

Typologie des toxiques étudiés

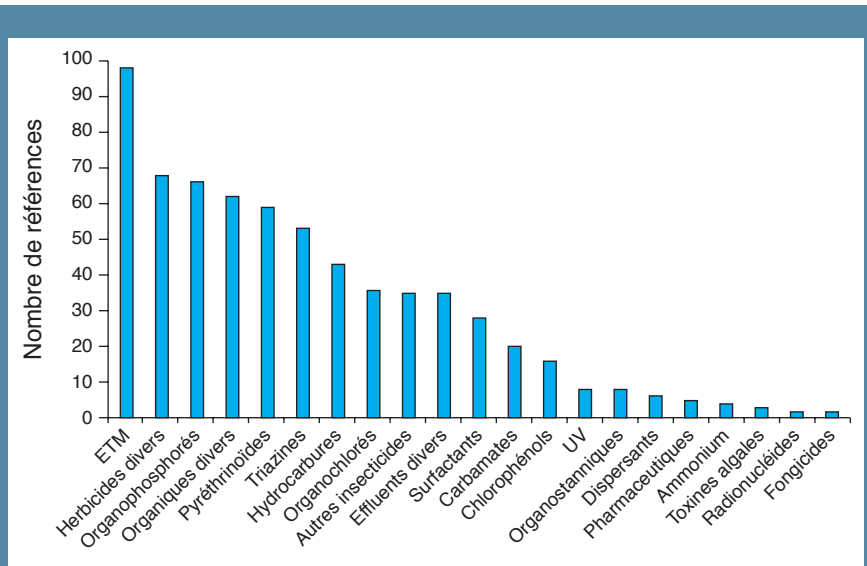
Toujours à partir de la base bibliographique évoquée ci-dessus, il est également possible d'observer la répartition des utilisations des mésocosmes en écotoxicologie en fonction des substances étudiées (fig. 2).

Il ressort de cet examen la

nette prédominance des études concernant les pesticides (46,1 % des publications, eaux douces et marines confondues), ce qui s'explique par les travaux qui ont permis d'aboutir à l'utilisation en routine des mésocosmes dans les procédures d'homologation de ces substances. Les éléments traces métalliques (15 %) forment la seconde composante en nombre.

Une analyse en composantes principales (ACP) réalisée à partir des mêmes données bibliographiques permet de relier les types de

Figure 2 : Fréquence d'étude en mésocosmes des différentes catégories de contaminants de l'environnement (d'après T. Caquet).



mésocosmes utilisés aux toxiques étudiés. On met ainsi en évidence la spécificité de certaines utilisations :

– dispersants, organostanniques et toxines algales pour les écosystèmes expérimentaux marins ;

– effluents, ammonium et surfactants pour les rivières artificielles ;

– organochlorés, carbamates, organophosphorés, éléments traces métalliques (ETM), triazines et pyréthrinoides pour les mésocosmes lentiques (mares, fossés, enceintes...).

Taille, espèces, critères d'effet : quelques questions pratiques

Une importante littérature est consacrée à l'analyse des différentes étapes de la mise en œuvre des mésocosmes en écotoxicologie aquatique (par exemple Graney *et al.* 1994, Hill *et al.* 1994, Campbell *et al.* 1999, Caquet *et al.* 2000, Giddings *et al.* 2002). Quelques considérations relatives à la taille de ces systèmes, à leurs caractéristiques biologiques et aux critères d'effet utilisés sont présentées ici.

Quelle taille de mésocosme ?

Elle est très variable pour les études d'écotoxicologie, où peuvent être utilisées des rivières artificielles de moins d'un mètre à plus de 1000 m de longueur, des mares de 2 à 1000 mètres cubes, des enclos limniques de 2 litres à 2500 mètres cubes. Les réflexions présentées dans la section précédente, relative aux utilisations en écologie, restent évidemment valables ici. S'y ajoute le fait que la présence de dispositifs de mesure et d'échantillonnage et les interventions expérimentales doivent garder un impact négligeable sur la structure et la dynamique des systèmes. À l'inverse, l'utilisation de systèmes de très grande taille (plusieurs centaines de mètres cubes) rend plus délicate l'application des contaminants et présente en outre un risque de divergence entre les différentes parties du système, ce qui se traduit par un accroissement de la variabilité de nombreux paramètres et complique l'échantillonnage.

Quels organismes y introduire ?

Les plantes supérieures aquatiques jouent un rôle majeur dans la structuration des mésocosmes : elles constituent des supports pour le

développement du périphyton, des refuges et des supports de ponte pour différentes espèces animales. Cette structuration est également assurée par le phytoplancton, dont la répartition influe sur la distribution spatiale des animaux herbivores du zooplancton, ou par certains prédateurs qui peuvent influencer la taille ou la répartition de leurs proies.

Le fonctionnement des mésocosmes est quant à lui largement conditionné par les producteurs primaires (phytoplancton, périphyton) et les détritivores (micro-organismes et invertébrés). Les consommateurs, poissons par exemple, exercent des effets directs (prédation sélective) et indirects (diminution de la pression du zooplancton sur le phytoplancton) sur ce fonctionnement.

Quels critères mesurer ?

Les mésocosmes permettent l'utilisation simultanée de divers descripteurs. En les confrontant, il est possible de caractériser des relations de cause à effet difficilement appréhendables dans le milieu naturel. Le premier type de descripteurs utilisables correspond à des paramètres écologiques (oxygène dissous, pH...) qui rendent

compte des effets des polluants sur l'écosystème dans son ensemble. D'autres descripteurs sont fournis par les organismes présents, au niveau des populations (abondance, structure de taille...) ou des communautés (diversité, dominance...). Les macroinvertébrés et le plancton, ainsi que le périphyton dans les systèmes d'eau courante, constituent les groupes les plus étudiés.

Place et apport des mésocosmes en écotoxicologie aquatique

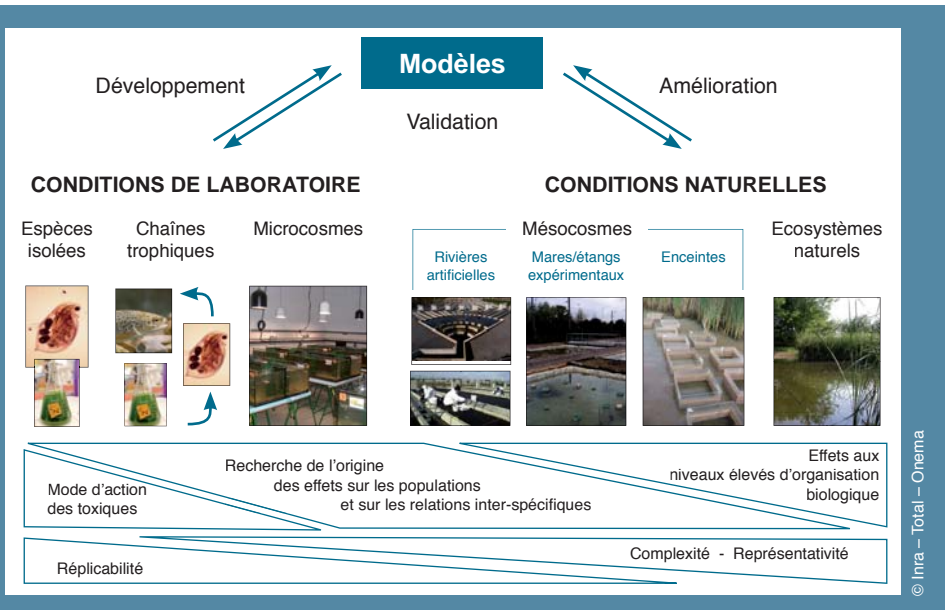
Les mésocosmes s'inscrivent dans un continuum d'outils utilisables en écotoxicologie, qui va du test de toxicité en laboratoire à la mise en œuvre d'études en milieu naturel (figure 3). De manière générale, ils y constituent un bon compromis entre réalisme (meilleur qu'en laboratoire) et facilité de réalisation (par rapport aux études en milieu naturel).

Une caractéristique fondamentale des approches en mésocosmes est leur capacité à mettre en évidence les réponses de communautés d'organismes de différents types (microalgues, invertébrés, etc.) exposées à un ou

des contaminants, ce que ne permettent pas les tests de toxicité monospécifiques conduits en laboratoire. Ce point se double d'un second atout essentiel lié à l'utilisation des mésocosmes : la possibilité d'analyser simultanément le devenir et les effets des toxiques. Ces dispositifs permettent notamment la prise en compte des phénomènes qui réduisent (adsorption sur les matières en suspension par ex.) ou accroissent (bioturbation par ex.) la biodisponibilité des contaminants – et donc leurs

effets. Cette donnée est essentielle, en particulier dans le cadre de l'évaluation des risques environnementaux. Citons le cas des insecticides pyréthriinoïdes : leur toxicité aiguë (CL50,96 h < 1 µg/L en laboratoire) se traduit, comme l'ont montré des études en mésocosmes, par un risque écotoxicologique limité pour les poissons, du fait de l'adsorption rapide de ces substances sur les particules en suspension dans l'eau et les sédiments, suivie de leur dégradation en substances non toxiques.

Figure 3 : Place des mésocosmes dans le continuum des outils d'analyse des effets à différents niveaux d'organisation biologique (d'après Caquet *et al.* 2000).



Un autre avantage majeur des approches en mésocosmes réside dans le fait qu'ils permettent d'identifier et d'étudier les effets indirects des toxiques. Ceux-ci se produisent lorsque une substance affecte directement certaines espèces-clés de l'écosystème (plantes supérieures, herbivores dominants, prédateurs, etc.), entraînant des conséquences variées : évolution de paramètres abiotiques (pH par ex.), sélection de génotypes tolérants entraînant une perte de diversité génétique, prolifération d'espèces tolérantes au détriment d'autres plus sensibles, ou encore vulnérabilité accrue de certaines proies du fait de l'altération de leur comportement ou de leur habitat.

Ces avantages, d'un intérêt primordial en écotoxicologie, s'ajoutent aux caractéristiques déjà exposées des mésocosmes (complexité, répliquabilité, contrôle des conditions d'exposition et possibilité de comparaison avec des systèmes témoins). En contrepartie, leur mise en œuvre doit bien sûr tenir

compte des limites exposées plus haut – perte de productivité liée à l'isolement, durée limitée des expériences, variabilité intra-traitement. En outre, l'investissement est en général important : l'utilisation des mésocosmes doit être pensée de manière à optimiser le rapport coût/informations recueillies.

Au final, les systèmes de type mésocosmes s'imposent comme des outils de grand intérêt pour faire progresser les connaissances en écotoxicologie ou mettre au point des méthodes de caractérisation de la qualité des milieux aquatiques. Leur utilisation doit cependant être pensée de manière judicieuse, c'est-à-dire en général dans le cadre d'une démarche intégrée. Leur coût de mise en œuvre impose en particulier d'identifier clairement les questions auxquelles l'on souhaite répondre : c'est sur la base de ce questionnement que des décisions peuvent être prises quant au type de méthodes d'échantillonnage et de mesure à utiliser et aux paramètres à suivre.

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.

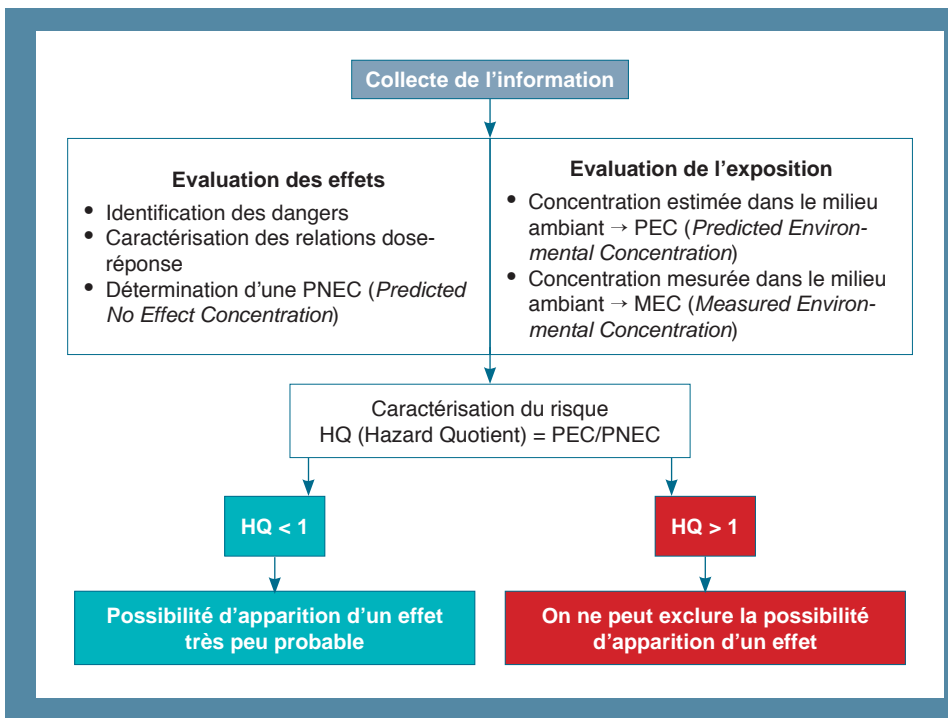
« PNEC » et mésocosmes : mode d'emploi

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

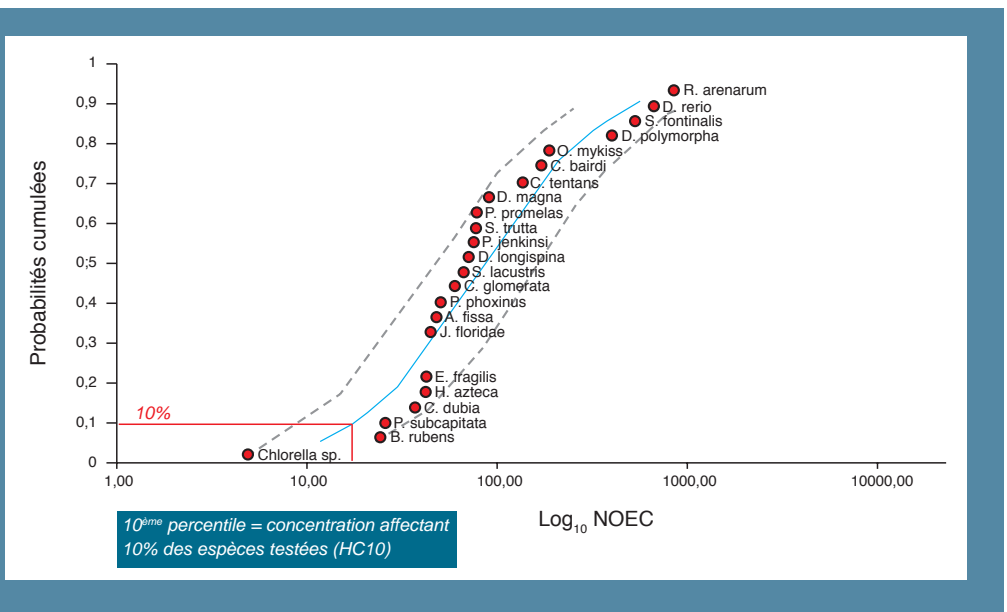
Figure 4 : Principes généraux de l'évaluation du risque environnemental (d'après EC 2003. *Technical guidance document on risk assesement*).



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 préalables 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.

Phytoprotecteurs 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.

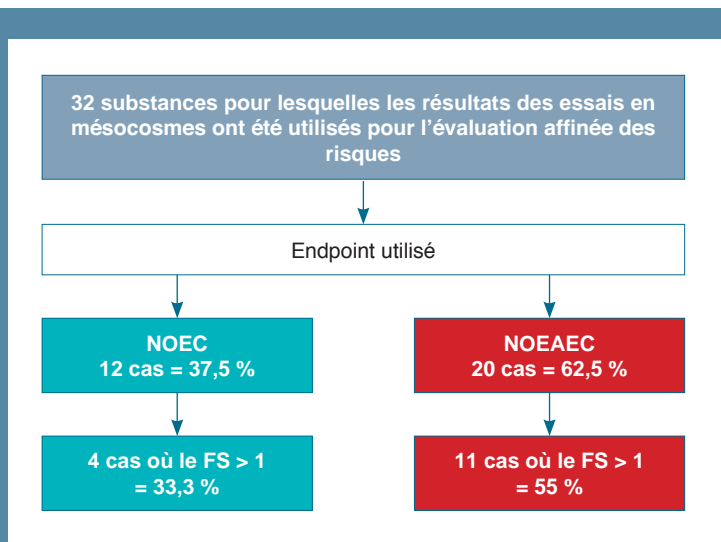
Au niveau européen, sur les 157 substances inscrites à l'annexe 1 de la directive 91/414, 36 présentaient dans leur dossier d'homologation au moins une étude en mésocosmes. Parmi celles-ci, 32 ont été utilisées en évaluation des risques – laquelle constitue donc, et de loin, la principale utilisation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