

2.2 – Outils biologiques d'aide à la surveillance

Indices biologiques

Les perturbations de la qualité de l'environnement se traduisent très souvent par une diminution de la biodiversité des communautés, ou une modification de l'abondance relative des taxons (espèces, genres, familles) : certains taxons, qualifiés de « pollusensibles », disparaissent ou se raréfient tandis que d'autres (taxons « pollurésistants ») apparaissent ou se multiplient.

En conséquence, l'évaluation de l'état écologique des milieux menée dans le cadre de la DCE doit s'appuyer sur l'analyse des communautés d'organismes qu'ils abritent et sur la mesure de l'écart aux conditions de référence. Certains indicateurs existent déjà (IBD : Indice Biologique Diatomée, IBGN : Indice Biologique Global Normalisé basé sur l'analyse de macro-invertébrés benthiques, IPR : Indice Poisson en Rivière), mais ils doivent encore être adaptés pour assurer une compatibilité vis-à-vis de la DCE (par ex., prise en compte de la composition taxonomique ou fonctionnelle, des abondances, de la

structure d'âges des populations ou communautés). Par ailleurs, la plupart des outils de bioindication développés pour l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques n'ont pas été mis au point pour mettre en évidence de façon spécifique les impacts des substances toxiques. Ainsi l'IBGN, surtout sensible aux variations des conditions d'oxygénation du milieu et aux modifications de l'habitat, ne semble pas apporter de réponses pertinentes vis-à-vis des micropolluants.

Il faut cependant souligner que d'autres outils ou méthodes semblent plus adaptés à ces produits, comme l'approche « *Species At Risk* » (SPEAR) basée sur l'analyse de la communauté d'invertébrés benthiques, pour l'étude des effets des pesticides en cours d'eau (voir Schäfer *et al.* 2007 pour un exemple d'utilisation à large échelle en Europe).

Espèces sentinelles utilisées en surveillance

Depuis les années 80, la surveillance de la qualité des masses d'eau est placée sous la responsabilité des agences de l'eau. Dans

le cadre des réseaux de surveillance, les analyses chimiques pratiquées sont réalisées sur des matrices dites « classiques », comme l'eau brute, les matières en suspension (MES) et les sédiments, mais également dans des matrices biologiques comme les bryophytes (végétaux primitifs tels que les mousses et sphaignes, possédant une capacité élevée d'accumulation de certains polluants). Cette dernière matrice est un support analytique bien établi pour la surveillance des contaminants métalliques dans l'eau (André & Lascombe 1987), et des guides techniques relatifs à leur utilisation en surveillance sont disponibles (Agences de l'Eau 1998). Reconnaissant l'importance de la surveillance chimique dans les matrices biologiques, les agences de l'eau, en partenariat avec différents instituts de recherche, ont étudié la possibilité d'utiliser d'autres espèces sentinelles représentatives des différents bassins hydrographiques. Cependant, en raison des surcoûts engendrés et des difficultés rencontrées au cours de l'échantillonnage, de l'analyse des données et de l'exploitation des résultats, leur mise en œuvre

généralisée dans les réseaux de surveillance n'est pas envisagée actuellement. De plus, les méthodes d'analyse chimique normalisées n'existent généralement pas sur ces matrices, ce qui pose un problème évident au niveau de la qualité des données générées (Schiaivone & Coquery 2009).

Cela pourrait changer. En effet, la directive fille sur les NQE définit des normes de qualité environnementale pour le biote pour au moins 3 des 33 substances prioritaires (mercure, hexachlorobenzène, hexachlorobutadiène), et rend obligatoire le suivi des tendances temporelles des concentrations en contaminants dans des matrices intégratrices. Ces dispositions devraient se traduire par un développement de l'utilisation des organismes aquatiques en tant que support analytique pour le suivi des contaminants dans le milieu. Avant l'application de ces NQE_{biote}, chaque Etat membre devra adopter des stratégies de surveillance, notamment des méthodologies d'échantillonnage et d'analyse, afin d'obtenir des résultats homogènes qui permettront par la suite d'établir des comparaisons à l'échelle nationale et européenne.

À ce jour, les stratégies d'échantillonnage et les méthodes pour choisir les organismes sentinelles n'ont pas encore été standardisées pour la surveillance chimique en milieu continental. Les critères de base définissant une espèce sentinelle « idéale » sont multiples (Phillips & Rainbow 1993 ; Beeby 2001). Le choix d'une espèce aux dépens d'une autre doit non seulement tenir compte de ces critères (Tableau 2), mais également

des objectifs de la surveillance, des contaminants recherchés, ainsi que des stratégies d'échantillonnage (surveillance passive/encagement et transplantation d'organismes) et des paramètres d'échantillonnage (taille de l'échantillon, période et fréquence du prélèvement, taille/âge des individus prélevés, etc. ; Tilghman *et al.* 2009).

Tableau 2 : Caractéristiques d'une espèce sentinelle « idéale » (Source : Beeby 2001).

- Espèce réagissant rapidement aux variations du milieu ambiant (atteinte d'un « équilibre » rapide entre milieu externe et milieu intérieur)
- Existence d'une relation linéaire entre la concentration en contaminant dans le milieu ambiant et la concentration de contaminant dans l'organisme entier ou dans ses tissus, pour une large gamme de concentration de contaminants
- La nature de la relation entre la teneur des contaminants bioaccumulés et la concentration de ces mêmes contaminants dans le milieu ambiant doit être la même dans tous les sites étudiés
- Espèce abondante, populations capables de supporter une pression de prélèvement
- Facilement identifiable, détermination de l'âge aisée
- Bonne connaissance sur la physiologie de cette espèce, incluant les effets de l'âge, du sexe, de la saison et de la reproduction sur la teneur des contaminants bioaccumulés
- Quantité suffisante de tissus pour permettre des analyses chimiques
- Espèce longévive, permettant une intégration du signal de pollution sur une période de temps suffisamment longue
- Espèce sédentaire, assurant une prise d'information sur les niveaux de contamination spécifique au site étudié
- Voies d'exposition aux contaminants bien caractérisées

Biomarqueurs d'exposition et d'effets

Dans le contexte de l'évaluation des effets de la contamination des milieux sur les organismes, les biomarqueurs ont été définis comme des changements observés ou mesurés à différents niveaux d'organisation biologique infra-populationnels,

et qui reflètent l'exposition des organismes à au moins un contaminant (Depledge 1993 ; Lagadic *et al.* 1997). Toutefois, afin de prendre en considération la diversité des contaminants présents dans les écosystèmes aquatiques et la multiplicité de leurs effets, il est rapidement apparu nécessaire de recourir à une

Tableau 3 : Exemples de biomarqueurs biochimiques et cellulaires utilisés en écotoxicologie pour la recherche d'exposition et/ou d'effets (d'après Sanchez 2008).

Biomarqueur	Description	Contaminants détectés
Activité EROD	Enzyme de biotransformation induite par les hydrocarbures planaires	PCB, HAP et composés de type dioxine
Activité acétyl cholinestérase (AChE)	Enzyme du métabolisme des neurotransmetteurs	Organophosphorés, carbamates et molécules similaires
Vitellogénine (VTG)	Précurseur des réserves nutritives de l'œuf normalement synthétisé par la femelle	Perturbateurs endocriniens œstrogène-mimétiques
Métallothionéines (MT)	Protéines chélatrices impliquées dans l'homéostasie des métaux essentiels, protection contre le stress oxydant	Métaux traces et inducteurs de stress oxydant
Activité de la déhydratase de l'acide delta-aminolévulinique (ALAD)	Enzyme impliquée dans le métabolisme des acides aminés	Plomb
Stabilité lysosomale	Test visant à évaluer l'intégrité de la membrane des lysosomes de la cellule	Marqueur général de santé
Dommages à l'ADN	Altération de la structure de l'ADN	Substances génotoxiques (HAP et autres contaminants organiques)
Activité du lysozyme	Facteur de résistance à la maladie	Marqueur général de santé
Analyse de l'agrégation des macrophages	Première ligne de défense du système immunitaire	Contaminants multiples (métaux, HAP)

approche multi-biomarqueurs basée sur la mesure de biomarqueurs complémentaires permettant de couvrir une large gamme d'effets à des niveaux d'organisation biologique différents (par ex. Galloway *et al.* 2004, Sanchez *et al.* 2008 et Tableau 3).

Les recherches menées sur cette thématique ont mis en évidence la complémentarité de l'approche basée sur les biomarqueurs avec les méthodes conventionnelles de surveillance des milieux aquatiques (c'est-à-dire les analyses chimiques réalisées dans l'eau, le sédiment ou les organismes, les méthodes de bioindication) (Lagadic *et al.*, 1997b). Les biomarqueurs peuvent en effet permettre d'identifier les effets biologiques précoces de la contamination sur les organismes, mais également, dans certains cas, les sources de cette contamination. De plus, les biomarqueurs mesurés aux niveaux les plus bas de l'organisation biologique peuvent participer à la caractérisation des relations mécanistes permettant de lier exposition et effet (Caquet & Lagadic 1998, Lagadic 1999).

Enfin, les biomarqueurs mesurés à des niveaux dif-

férents d'organisation biologique peuvent être mis en œuvre dans une approche basée sur le poids des évidences, combinant à la fois des mesures chimiques dans le milieu et le biote, des mesures biochimiques, des analyses histopathologiques, et des études sur les populations et les communautés, qui permettrait d'étayer le diagnostic environnemental (Sanchez 2008).

Une telle approche pourrait dès maintenant être mise en œuvre dans le cadre de la DCE. Elle permettrait notamment, dans le cadre du contrôle d'enquête ou lorsque les analyses chimiques ne mettent pas en évidence de dégradation de la qualité chimique du milieu, d'orienter d'éventuelles analyses chimiques complémentaires afin d'identifier une contamination potentielle par des polluants non recherchés en première intention (Sanchez 2008).

Cependant, ces outils restent très peu utilisés dans le cadre des réseaux de surveillance. Le réseau américain BEST-LRMN demeure le seul exemple en milieu continental. Ce déficit peut en partie s'expliquer par la difficulté d'interprétation des résultats fournis par les biomarqueurs

par les gestionnaires de l'environnement, à laquelle s'ajoute le manque de standardisation des méthodes pour la mise en œuvre de ces outils à large échelle. Afin de combler ces lacunes, plusieurs axes de travail peuvent être envisagés, dont :

- l'accroissement des connaissances sur les biomarqueurs ayant émergé le plus récemment en écotoxicologie (marqueurs d'immunotoxicité et de génotoxicité), en vue de leur utilisation dans des programmes de surveillance ;
- l'accroissement des connaissances sur les effets des facteurs biotiques et abiotiques sur les niveaux physiologiques des biomarqueurs et leur réponse. Cet effort devrait permettre d'établir des valeurs de référence pour les biomarqueurs et contribuer ainsi à une meilleure interprétation des résultats sur le terrain ;
- le développement et la validation d'outils d'interprétation des données compatibles avec les exigences de la DCE et les besoins des gestionnaires ;
- la mise en place d'un système de validation des biomarqueurs s'appuyant sur des exercices d'inter-comparaison et un processus

d'assurance qualité. Ces dispositifs existent déjà en milieu marin dans le cadre des programmes JAMP et MEDPOL et contribuent à l'application des biomarqueurs sur des zones géographiques étendues (Sanchez 2008).

Au bilan, les besoins et attentes des gestionnaires en matière d'outils biologiques d'aide à la surveillance s'expriment au travers des priorités suivantes :

- modification, adaptation des outils de bioindication existants pour les rendre compatibles avec la DCE ;
- développement d'outils de bioindication spécifiques pour la caractérisation des impacts de certains toxiques ;
- acquisition de connaissances sur les caractéristiques biologiques d'espèces sentinelles destinées à la surveillance de la qualité des milieux ;
- validation de biomarqueurs identifiés en laboratoire et susceptibles d'être utilisés en milieu naturel ;
- mise en relation des réponses de certains biomarqueurs avec des modifications à plus long terme au sein des populations, en vue de proposer des outils prédictifs.

L'inventaire synthétisé dans cette seconde partie a été mené par l'Onema dans la perspective explicite du séminaire du Croisic, et présenté aux participants en conférence plénière. Il s'est attaché à faire émerger, par un examen de l'ensemble des besoins et attentes actuels des gestionnaires de l'eau, les différents domaines d'études liées à l'évaluation de risque et à la surveillance des milieux aquatiques pour lesquels les approches utili-

sant des mésocosmes en écotoxicologie pourraient concourir à l'amélioration des connaissances et des méthodologies.

Cet examen a permis de lancer la réflexion sur les possibilités actuelles d'utilisation des mésocosmes par les gestionnaires de la qualité des milieux aquatiques, sous la forme d'ateliers de travail dont les comptes-rendus sont présentés dans la troisième partie de ce document. ■

