

# **Intérêts et limites des variables biologiques en écotoxicologie aquatique**

**Patrick FLAMMARION**

**Série Méthodes**

**N° 02-M01**



Site internet : <http://www.environnement.gouv.fr>

20 avenue de Ségur - 75302 Paris 07 SP

## ► RESUME

### **Intérêts et limites des variables biologiques en écotoxicologie aquatique**

Patrick FLAMMARION

#### Résumé :

Les substances chimiques dispersées dans l'environnement représentent un risque pour les organismes vivants et la santé humaine. Pour quantifier le risque écotoxicologique de ces substances, il est utile de mesurer des effets biologiques a priori (i.e. avant le rejet des substances dans l'environnement) ou a posteriori en effectuant une biosurveillance des écosystèmes.

Afin de préciser les risques potentiels d'une substance chimique il est important d'évaluer sa toxicité sur diverses espèces représentatives des écosystèmes aquatiques (effets sur la survie, la reproduction, la croissance etc.). Ces paramètres de toxicité sont intégrés dans les procédures d'évaluation de risque a priori (avant une autorisation de mise sur le marché d'une nouvelle substance par exemple). Ces données estimées en laboratoire ont été également intégrées dans le SEQ -système d'évaluation de la qualité des eaux. Il reste cependant indispensable de compléter ces méthodes d'évaluation a priori par des mesures d'impacts réels dans l'environnement : ce sont les outils biologiques de biosurveillance.

Par exemple, les bioindicateurs sont des mesures pertinentes pour caractériser le fonctionnement et la qualité des écosystèmes mais ils peuvent présenter des difficultés de mise en œuvre ou d'interprétation car ils intègrent les effets d'autres facteurs que la pollution. Cette difficulté explique le développement de mesures de paramètres sur les individus, qui soient « intermédiaires » et donc à la fois précoces (rapidité de réponse à la contamination chimique) et sensibles (effet spécifique de la nature du contaminant et de sa concentration), mais aussi aptes à fonder un diagnostic sur la santé de l'écosystème (dynamique des populations et des communautés) sans attendre des dommages écologiques irréversibles.

Ces variables biologiques pourraient être utilisées dans le contexte de l'application de la Directive cadre sur l'eau dont l'objectif est d'atteindre le "bon état écologique" pour les hydrosystèmes d'ici 2015. Afin d'atteindre cet objectif, des variables biologiques seront nécessaires aux différentes phases de la mise en place de la Directive afin de quantifier les écarts à l'objectif de bon état écologique, alors même que les connaissances restent partielles.

Pour aider à sélection des variables biologiques les plus pertinentes, la modélisation, une voie particulièrement négligée pour l'instant en écotoxicologie, pourra être un outil utile de hiérarchisation des variables clefs parmi les interactions biochimiques, effets sur la reproduction, survie, la dynamique de population.

En définitive, n'utiliser que des valeurs de concentrations en micropolluants et des bioindicateurs de communautés ne répond que partiellement aux enjeux de la Directive cadre. Les approches chimiques doivent progresser pour améliorer l'évaluation des concentrations réellement biodisponibles aux organismes, des métabolites des substances chimiques. Les mesures effectuées dans le cadre du Système d'Évaluation de la Qualité doivent en tenir compte. Les indicateurs écologiques peuvent par ailleurs progresser vers une meilleure prise en compte du facteur contamination dans la construction, voire la modélisation, des indices. Les biomarqueurs pourraient avantageusement compléter la panoplie des méthodes par l'information qu'ils apportent en termes de biodisponibilité et de risque potentiel pour les organismes.

Abstract :

Chemical substances present in the aquatic environment may be hazardous to organisms (invertebrates, fish) as well as to human beings. The ecotoxicological risk of the chemical substances is usually assessed by the measurement of biological parameters in the laboratory (bioassays) or in the field (biomonitoring). Other approaches, including biomarkers and modelling, could be very useful considering the challenge induced by the implementation of the Water Framework Directive.

*Ce document n'engage que son auteur et non l'institution à laquelle il appartient. L'objet de cette diffusion est de stimuler le débat et d'appeler des commentaires et des critiques.*

## ► SOMMAIRE

<i>I</i>	<i>Introduction : intérêts et limites de L'utilisation de variables biologiques .....</i>	<i>4</i>
<i>II</i>	<i>Evaluation de l'écotoxicité en milieu aquatique .....</i>	<i>5</i>
<i>III</i>	<i>Biosurveillance .....</i>	<i>7</i>
III.1	Bioindicateurs.....	7
III.2	Mesures de biomarqueurs spécifiques .....	8
III.3	Mesure de l'induction de l'EROD.....	10
III.4	Effets biologiques chez le poisson exposé à des mimétiques oestrogènes.....	10
<i>IV</i>	<i>Des défis posés à la recherche.....</i>	<i>11</i>
IV.1	Directive cadre sur l'eau .....	11
IV.2	Un besoin d'outils prédictifs et prospectifs.....	12
IV.3	Ecologie et rénovation de la bioindication.....	13
<i>V</i>	<i>Perspectives .....</i>	<i>15</i>
<i>VI</i>	<i>Conclusion .....</i>	<i>16</i>
<i>VII</i>	<i>Références bibliographiques .....</i>	<i>17</i>

# Intérêts et limites des variables biologiques en écotoxicologie aquatique

P. FLAMMARION

Ministère de l'écologie et du développement durable

## I INTRODUCTION : INTERETS ET LIMITES DE L'UTILISATION DE VARIABLES BIOLOGIQUES

Les écosystèmes aquatiques sont l'objet de programmes de surveillance qui reposent sur des mesures chimiques (par exemple la mesure de concentrations de métaux, d'hydrocarbures etc.) elles mêmes complétées de mesures biologiques (par exemple l'estimation de l'abondance d'espèces de poissons ou d'invertébrés) afin de quantifier mais aussi de prévenir l'impact des pollutions.

En effet, les mesures chimiques ont des limites, notamment les suivantes : elles ne permettent pas de détecter les plus de 100 000 molécules chimiques (sans compter leurs métabolites) à caractère toxique existantes et rejetées dans le milieu naturel et ne renseignent pas sur les effets de mélanges de contaminants (effets synergiques, effets antagonistes). D'autre part, la quantification des concentrations dans l'environnement n'est pas aussi simple que dans une solution de laboratoire du fait des interactions particulières ou les spéciations. Enfin, certaines substances peuvent présenter un risque à des concentrations inférieurs aux limites de détection.

La médecine (épidémiologie, toxicologie) ne s'intéresse qu'à une seule espèce (l'homme) et utilise quelques modèles mammifères pour évaluer l'impact de substances chimiques sur l'homme. L'écotoxicologie, nous le verrons plus en détail dans les lignes qui suivent, est confrontée quant à elle à une multitude d'espèces sans espoir de n'en retenir qu'un petit nombre tant les fonctions écosystémiques des espèces sont différentes. Quoi de semblable en effet entre un cormoran et du phytoplancton ?

Or s'il est essentiel de prédire les effets biologiques dans toute leur diversité à partir d'informations sur la contamination chimique des milieux et, réciproquement, de diagnostiquer une pollution *in situ* à partir d'un minimum de mesures biologiques (l'échantillonnage biologique étant coûteux), force est de constater qu'actuellement nous en sommes loin et que la prédiction se fait à partir d'essais de laboratoire mono spécifiques (sur une espèce de poisson par exemple) dont on tire des paramètres synthétiques de toxicité (par exemple la concentration du toxique responsable de la mort de 50% des poissons de l'aquarium). L'évaluation des impacts écologiques se fait actuellement à partir de bio-indicateurs mesurés sur le terrain (par exemple l'IBGN - indice biologique global normalisé – quantifiant la qualité des communautés d'invertébrés aquatiques).

Nous allons, dans les pages qui suivent et en nous limitant principalement aux poissons et aux invertébrés, présenter successivement les approches d'évaluation de risques a priori et de biosurveillance (ou eco-épidémiologie) des milieux aquatiques avant de nous intéresser aux défis lancés à la recherche. Ces enjeux scientifiques, s'ils sont pas nouveaux pour les chercheurs, ont néanmoins, parmi leurs urgences, celle de l'application de la nouvelle Directive cadre sur l'eau et les milieux aquatiques (Directive 2000/60/CE).

## II EVALUATION DE L'ECOTOXICITE EN MILIEU AQUATIQUE

Il est assez naturel de considérer la mort de l'organisme vivant comme l'effet toxique par excellence (car par nature irréversible). Les premiers bioessais de toxicité ont de fait reposé sur l'observation et le comptage du nombre de décès d'organismes (poissons, invertébrés) en fonction de l'exposition aux contaminants (concentration de la substance chimique, de l'effluent). La mort de l'organisme est aussi la variable biologique la moins sensible et des effets significatifs sont donc également recherchés sur la croissance ou la reproduction, effets qui mettent en danger l'organisme.

Selon la substance chimique et ses caractéristiques toxiques les effets observés d'une espèce vivante à l'autre seront différents. Afin de préciser les risques potentiels d'une substance chimique il est donc important d'évaluer sa toxicité sur diverses espèces représentatives des écosystèmes aquatiques.

Les poissons sont des indicateurs privilégiés de la qualité des écosystème car ce sont des organismes intégrateurs et représentatifs des effets de la contamination sur l'ensemble d'un réseau trophique. Les invertébrés sont moins intégrateurs des événements successifs aux différents niveaux de la chaîne trophique mais leurs échelles spatiales (mobilité, habitat) et temporelles (âge de première reproduction) sont en général plus courtes que celles des poissons ce qui les rend plus accessibles à l'expérience en laboratoire. Les invertébrés sont également, pour beaucoup d'espèces, en contact intime avec le sédiment connu pour accumuler la contamination. Des bioessais sur invertébrés benthiques ont ainsi été mis au point depuis quelques années.

Pour les invertébrés, les paramètres individuels sont essentiellement mesurés en laboratoire (activité métabolique, croissance, émergence, reproduction, survie ...) et peuvent servir à alimenter des modèles de dynamique de population (Kooijman et Metz, 1984 ; Kuhn et al., 2001). Ces paramètres sont assez aisés à atteindre, du moins au laboratoire, pour des organismes à cycles de vie relativement court (quelques semaines à quelques mois).

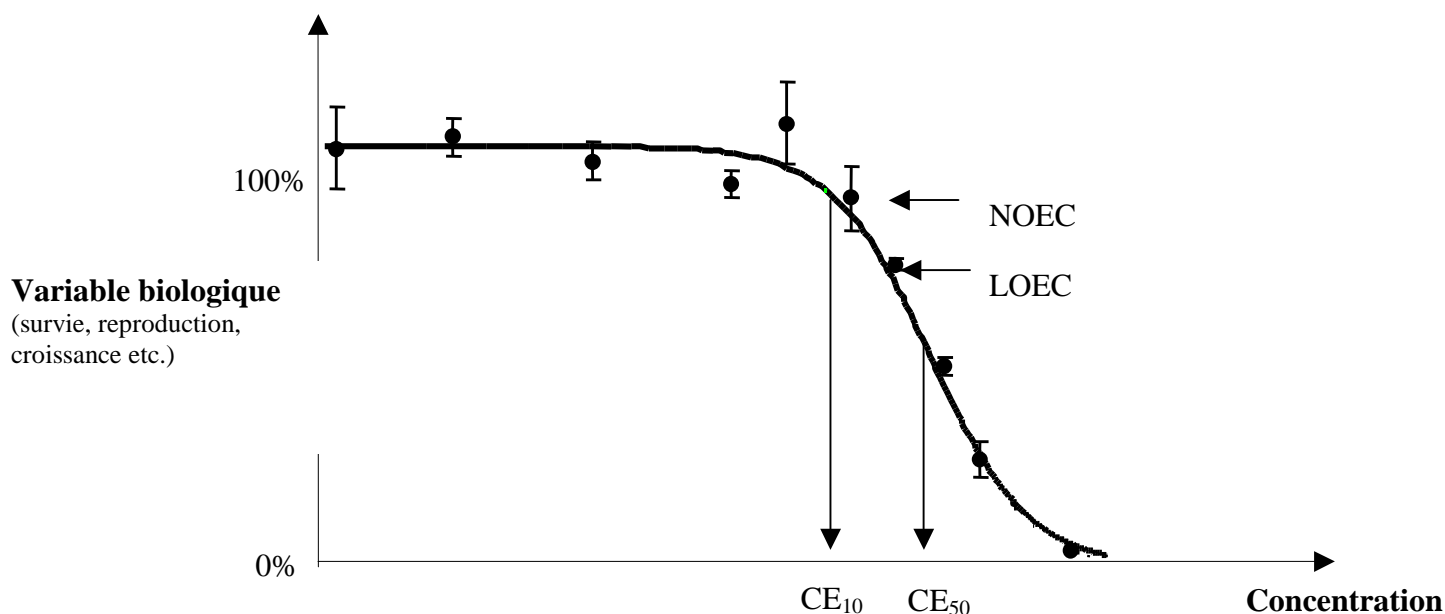


Figure 1. Effet biologique d'une substance chimique et paramètres estimés. NOEC = No Observed Effect Concentration, LOEC : Lowest Observed Effect Concentration ; CE10 : concentration de 10% d'effet, CE50 : concentration de 50% d'effet.

En ce qui concerne les poissons, les paramètres de mesure sur les individus concernent principalement la mesure de survie d'adultes (truite arc en ciel...) ou d'embryons (test avec poisson zèbre, vairon tête de boule, medaka...) ou de reproduction. D'autres mesures de type déformation, coefficient de condition... sont également proposées. Ce sont principalement des mesures effectuées en laboratoire voire en mésocosme (écosystème simplifié permettant des expériences contrôlées).

Les bioessais sur végétaux aquatiques sont en général des tests de croissance d'algues unicellulaires (calcul du taux de croissance exponentiel sur 3 jours par exemple).

Ces paramètres de toxicité sont intégrés dans les procédures d'évaluation de risque a priori (avant une autorisation de mise sur le marché d'une nouvelle substance par exemple). C'est un moyen simple de prédire la toxicité de la substance dans les milieux à partir de ces données sur des organismes modèles. Bien évidemment, compte tenu des incertitudes (extrapolations laboratoire terrain, inter espèces etc.), des facteurs de sécurité (10, 100, 1000) sont appliqués aux concentrations a priori toxiques ainsi estimées (facteurs élevés lorsque l'on ne dispose que de données de toxicité aiguë, facteurs intermédiaires lorsque sont disponibles des données de toxicité long terme sur plusieurs espèces de poissons, algues et invertébrés).

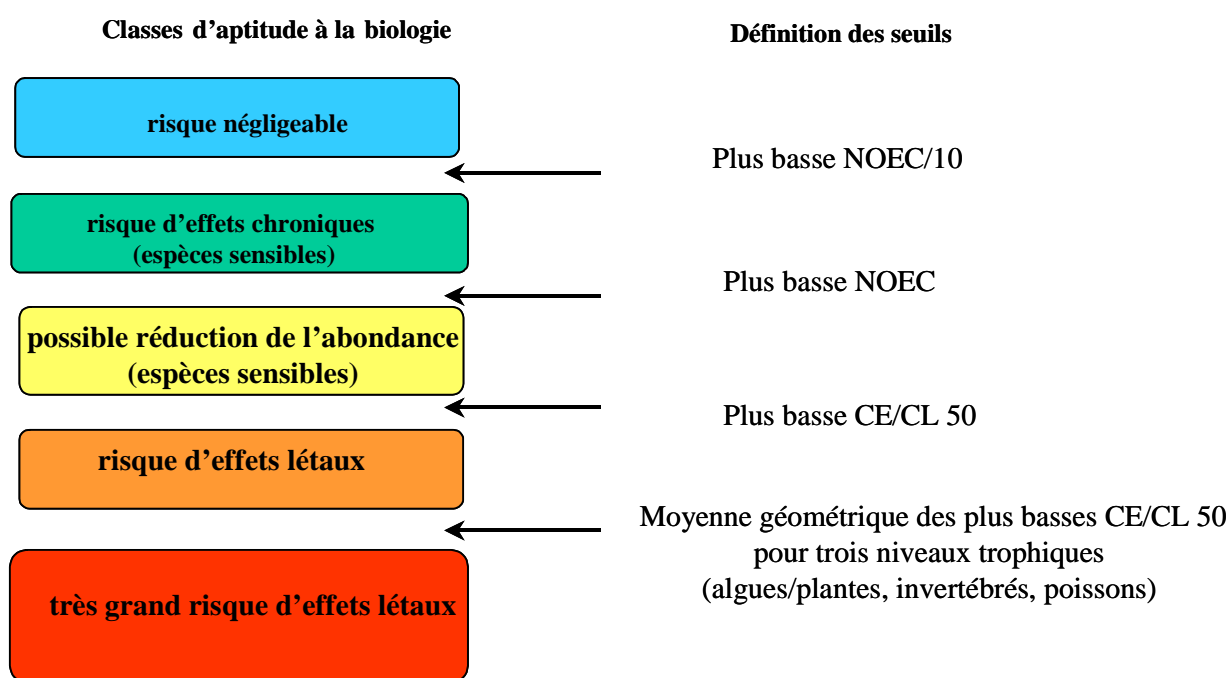


Figure 2. Définition des seuils du SEQ à partir des données écotoxicologiques sur une substance.

Ces données estimées en laboratoire ont été également intégrées dans le SEQ -système d'évaluation de la qualité des eaux. Le SEQ repose en effet sur le calcul de plusieurs concentrations seuil pour les substances chimiques retrouvées dans l'environnement aquatique (Figure 2). Comme ci-dessus, des facteurs de sécurité sont appliqués aux

données d'écotoxicité disponibles afin de tenir compte de leur faible représentativité environnementale. Le seuil 1 de « risque négligeable » permet a priori de se protéger de tout effet biologique dans l'environnement puisqu'il est estimé très en dessous des concentrations pour lesquelles aucun effet significatif n'est observé en laboratoire.

Malgré ces précautions, la prudence s'impose car ces concentrations ne peuvent tenir compte de la complexité de la chimie environnementale : interactions entre substances chimiques ou complexation avec la matière organique notamment. La comparaison, avec ces seuils, des concentrations mesurées en routine dans l'environnement par des méthodes qui ne permettent pas en général la détermination des concentrations effectivement biodisponibles, ne donne donc une information qui n'est que qualitative et ne prédit en rien les effets écologiques à attendre de la présence de ces produits dans l'environnement.

Compte tenu de cette complexité chimique mais aussi de la complexité biologique des systèmes vivants exposés à ces mélanges de substances chimiques, il reste indispensable de compléter ces méthodes d'évaluation a priori par des mesures d'impacts réels dans l'environnement : ce sont les outils biologiques de biosurveillance ou d'écoépidémiologie (Vindimian, 2001).

### III BIOSURVEILLANCE

Nous ne reviendrons pas sur des méthodes analogues à celles présentées ci-dessus et qui consistent à utiliser des tests d'écotoxicité en laboratoire (daphnie, chironome) mais sur des échantillons provenant du milieu naturel : effluent, sédiment afin d'être plus proche des conditions d'exposition réelle du milieu (échantillons complexes en composition). Nous insisterons davantage sur les bioindicateurs, utilisés depuis quelques décennies, et les biomarqueurs, qui sont quant à eux d'utilisation plus récente.

#### III.1 Bioindicateurs

Des mesures chimiques et biologiques sont utilisées depuis une quarantaine d'années en surveillance de l'environnement. Suite à la loi sur l'eau de 1964 (qui a mis en place les bassins des 6 agences de l'eau), les indices biotiques (prédécesseurs de l'IBGN) ont été mis en place. La loi de 1992 a par la suite renforcé les objectifs de qualité et par là le besoin d'indicateurs biologiques complémentaires.

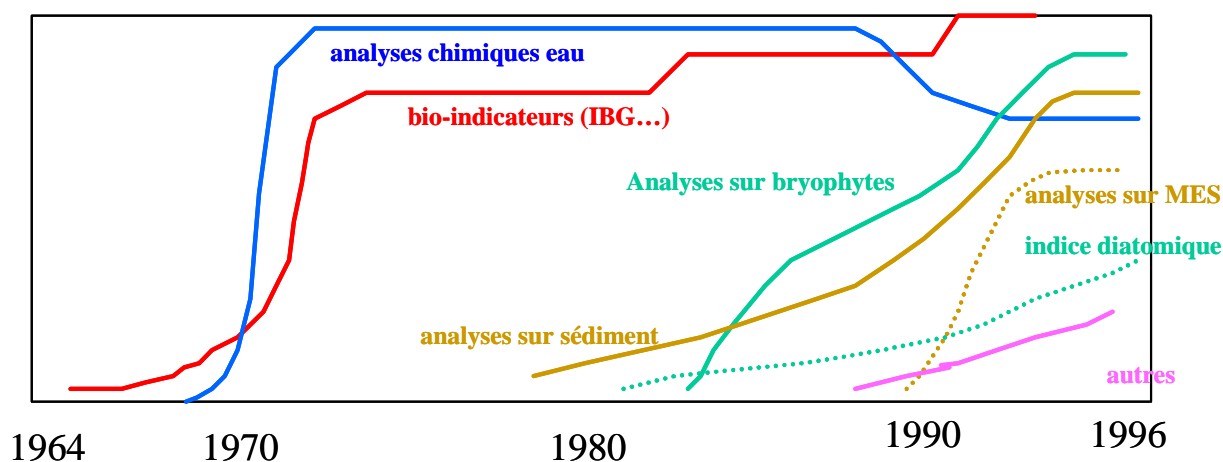


Figure 3. Evolution de la surveillance française des cours d'eau. Modifié d'après Meybeck (1997).



Du fait de leur relative facilité d'échantillonnage, de leur diversité, les invertébrés aquatiques sont largement étudiés et utilisés en écologie comme bioindicateurs pour caractériser le fonctionnement et la qualité des écosystèmes. Les études de communautés d'invertébrés in situ sont de fait relativement anciennes. D'une manière générale, la réponse des communautés d'invertébrés benthiques à la pollution se traduit par la diminution de la richesse spécifique, par la prolifération d'espèces résistantes, l'augmentation puis la diminution de leur abondance par m<sup>2</sup>. Ces études sont souvent traduites par des calculs synthétiques d'indices reposant sur l'étude d'effectifs (abondance et diversité) de populations dans les communautés. En France, l'indice le plus utilisé est l'IBGN, Indice Biologique Global Normalisé, indice fondé sur les familles de macroinvertébrés. D'autres indicateurs sont basés sur les oligochètes (Lafont, 1989), les mollusques (Mouthon, 1996), les diatomées (Descy et Coste, 1988) etc.

Les suivis de communautés de poissons sont assurés par le Conseil Supérieur de la Pêche (CSP) dans le cadre du Réseau Hydrobiologique et Piscicole (RHP). En raison des difficultés logistiques des suivis de population de poissons sur le terrain, la mise en évidence d'un changement au niveau de la taille ou de la structure de la population est néanmoins délicate, suppose un suivi sur plusieurs années ou décennies, et risque de ne pouvoir être démontrée avant que les effets ne soient irréversibles. Cette difficulté explique le développement de mesures de paramètres sur les individus (notamment des paramètres sanitaires tels que ceux mesurés pour le calcul de l'indice poisson américain), les conséquences sur la dynamique de population étant au mieux modélisées (par exemple : Munns et al., 1997).

### III.2 Mesures de biomarqueurs spécifiques

L'avantage des indicateurs 'intégrateurs' est donc qu'ils donnent une indication globale sur l'état de santé de l'écosystème. Les valeurs de ces indicateurs sont néanmoins délicates à relier aux polluants, car ces indicateurs intègrent d'autres variables (dont l'hydrologie : le passage d'une crue décimant les communautés d'invertébrés n'a rien de commun avec une pollution accidentelle d'insecticide). Cependant, comment dès lors "soustraire" (alors que les effets ne s'additionnent pas) les effets dus aux causes non polluantes pour en tirer une information sur les niveaux de contamination ? d'autant que la hiérarchisation des causes potentielles et leur pondération par des méthodes adéquates (Suter et al., 2002) peut être particulièrement délicate.

Les variables biologiques se situent à différents niveaux d'organisation biologique : cellule, organe, individu, population. A un des niveaux les plus intégrés au sens écologique, nous trouvons les indices reposant sur l'étude d'effectifs de populations. Les mesures de chaque niveau ont des constantes de temps et des cinétiques différentes de plusieurs ordres de grandeur (Figure 4).

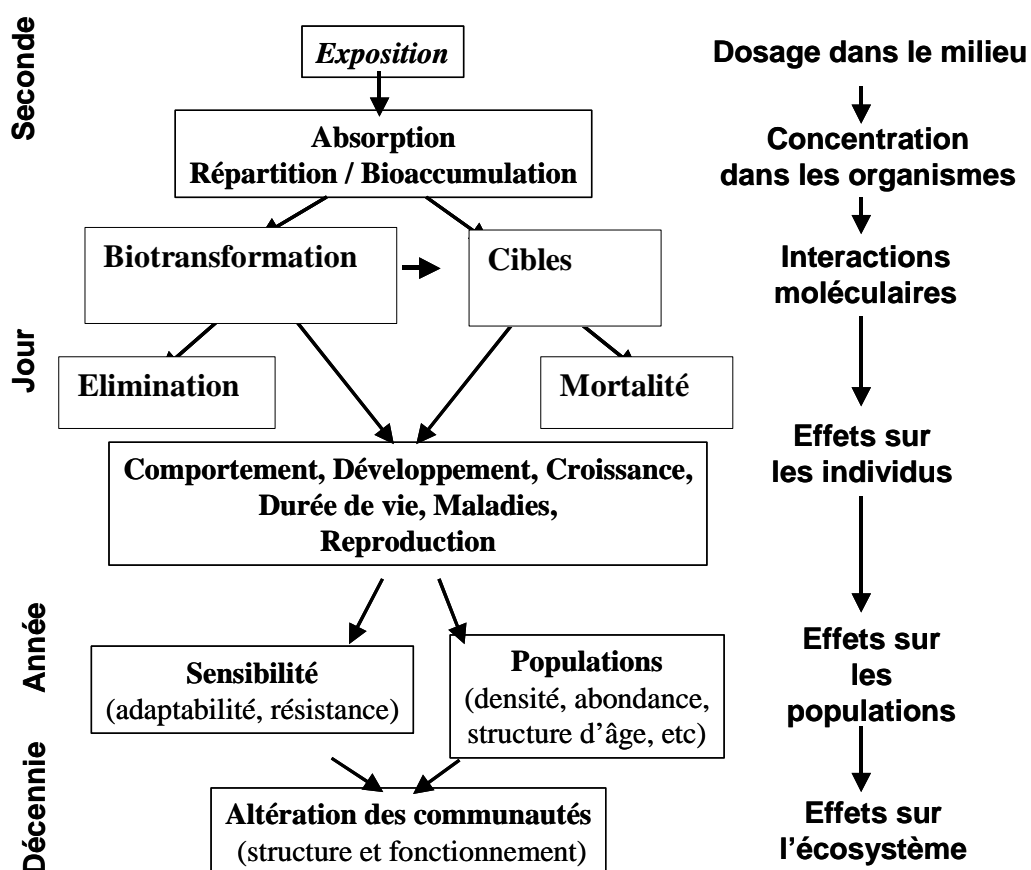


Figure 4. Effets biologiques subséquents à l'exposition aux contaminants chimiques - adapté de Caquet et Lagadic, 1998.

On peut s'intéresser également à des variables biologiques qui soient à la fois précoces (rapidité de réponse à la contamination chimique) et sensibles (effet spécifique de la nature du contaminant et de sa concentration), mais aussi aptes à fonder un diagnostic sur la santé de l'écosystème (dynamique des populations et des communautés) sans attendre des dommages écologiques irréversibles.

L'idée naturelle est de se pencher sur les variables « intermédiaires » : les biomarqueurs dont voici une définition "un changement observable et/ou mesurable au niveau

moléculaire, physiologique ou comportemental qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant"(Lagadic et al., 1997). Ces marqueurs détectent une réaction de l'organisme par la mesure de réponse immunologique, de paramètres sanguins, d'effets histopathologiques, de réserves énergétiques, d'indicateurs de croissance etc. (pour des synthèses voir Huggett et al., 1992 ; Lagadic et al., 1998).

Quelques exemples sont rassemblés dans le Tableau 1.

	<b>EROD, GST...</b>	<b>AChE</b>	<b>Essai des Comètes</b>	<b>Vitellogénine</b>	<b>stress oxydant</b>	<b>Métallothionéines</b>
<b>Méthode</b>	activité enzymatique	Activité enzymatique	électrophorèse	immunochimie	biochimie	immunochimie
<b>Tissus</b>	foie	Muscle	sang (erythrocytes)	sang (plasma)	foie	foie
<b>Spécificité</b>	PCB, HAP, dioxines...	organophosphorés, carbamates	métaux lourds, HAP...	mimétiques oestrogènes	non spécifique	métaux lourds
<b>Prédiction</b>	détoxification	neurotoxicité	cassures simple brin ADN	fécondité	stress oxydant	exposition aux métaux

Tableau 1. Exemples de marqueurs biochimiques mesurés chez le poisson.

Ces exemples concernent les poissons pour lesquels ont d'abord été développés les biomarqueurs, mais de nombreux biomarqueurs ont par la suite été mis au point chez les invertébrés. En effet, les processus biochimiques fondamentaux sont bien conservés dans le règne animal même si leur signification peut être différente entre un invertébré et un vertébré (Lagadic et al., 1998).

### III.3 Mesure de l'induction de l'EROD

Le biomarqueur le mieux connu et le plus utilisé est la mesure de l'induction du cytochrome P450 1A dans le foie des poissons. Cette induction est souvent quantifiée par la mesure de l'activité EROD (EthoxyRésofurine-O-Dééthylase). Ce signal biochimique est sensible aux HAPs (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques), PCBs (Polychlorobiphényles), organochlorés, dioxines etc. Cette approche a été appliquée avec succès à l'étude de substances, d'effluents ou en biosurveillance (Bucheli et Fent, 1995 ; White et al., 2000). Son utilisation dans le cadre d'un suivi plus global des milieux aquatiques nécessitait l'estimation de valeurs EROD en sites peu contaminés et la quantification de l'influence des principaux facteurs de variabilité (Flammarion et Garric, 1999). La normalisation récente de ce biomarqueur par l'AFNOR peut désormais en favoriser l'utilisation dans les réseaux de mesure.

### III.4 Effets biologiques chez le poisson exposé à des mimétiques oestrogènes

Certaines substances chimiques dites «mimétiques oestrogènes» exercent une action «féminisante» des poissons mâles. Chez les poissons on peut ainsi observer une induction de vitellogénine (protéine spécifique de la femelle), la présence d'ovocytes dans les testicules, une baisse de la fécondité, ou une diminution des caractères sexuels secondaires (Tyler et Routledge, 1998).

En France, quelques études in situ sur les poissons mâles des cours d'eau ont pu mettre en évidence ce type d'effet (inductions modérées de vitellogénine, présence d'ovocytes dans les testicules) à l'aval de Paris ou de Lyon (Brion, 2001 ; Minier et al., 2000). Ces quelques résultats préliminaires permettent de s'assurer de l'exposition de ces poissons à des mimétiques oestrogènes et d'avancer le risque que la dynamique de population soit affectée. Cette hypothèse devrait être vérifiée mais les mesures in situ d'impacts sur la reproduction des poissons sont loin d'être évidentes car, comme nous l'avons vu ci-dessus, elles supposent un suivi pérenne.

#### **IV DES DEFIS POSES A LA RECHERCHE**

##### **IV.1 Directive cadre sur l'eau**

Après un processus de plus de 5 ans de négociations, la Directive cadre pour l'eau fut publiée au Journal officiel des communautés européennes le 22 décembre 2000 (Directive 2000/60/CE). Son objectif est de préserver et d'améliorer l'état des écosystèmes aquatiques, et en 2015 avoir atteint le "bon état écologique" pour les hydrosystèmes (avec une obligation de résultats). Afin d'atteindre cet objectif, des variables biologiques seront nécessaires aux différentes phases de la mise en place de la Directive :

- phase de caractérisation (inventaire des sources de pollution ; bilan de l'état des masses d'eau) ;
- mise en place ou adaptation des réseaux de surveillance des masses d'eau ;
- phase de restauration des milieux.

Il y a donc un fort besoin, tant dans la phase de caractérisation que dans la phase de restauration, de paramètres biologiques normalisés capables de quantifier ces écarts à l'objectif de bon état écologique, alors même que les connaissances restent partielles.

Pour de nombreux indicateurs, la route est longue avant d'aboutir à une « calibration » convenable. Certains auteurs (par exemple Mayer et al., 1992 ; Engel et Vaughan, 1996) ont énoncé des critères pour la « calibration » d'indicateurs biologiques (qu'ils soient biomarqueurs ou bioindicateurs) :

1. mesure simple et sensible ;
2. variabilité aux facteurs non toxiques (organisme, environnement, méthode) qui soit bien comprise et dans des limites acceptables ; valeurs témoins en sites non contaminés ;
3. réponse dépendant simplement de la dose et du temps et qui permette une quantification de l'exposition ou de l'effet; capacité à distinguer les situations polluées (pollution simple ou complexe) des situations non polluées ;
4. signification biologique : pouvoir prédictif quant à des effets à des niveaux biologiques supérieurs (reproduction...); éventuellement prédiction des risques pour l'homme.

Dans la 1<sup>ière</sup> étape de mise en œuvre de la Directive cadre (phase de caractérisation), ces variables biologiques permettront d'identifier les zones où faire porter les efforts. Dans la phase de restauration, il sera utile de suivre l'efficacité de la restauration avec ces mêmes variables biologiques mais aussi d'utiliser des variables biologiques complémentaires permettant de sélectionner des stratégies de restauration : par exemple biomarqueurs indiquant quels sont les familles de contaminants responsables du

médiocre état écologique ou biomarqueurs signifiant un risque plus important sur la dynamique de population de telle espèce que pour telle autre.

En parallèle, et afin de réduire a priori les risques liés aux contaminants, a été établie une liste de 33 substances prioritaires pour lesquelles il s'agit d'arrêter ou de supprimer progressivement les rejets et les pertes dans un délai de 20 ans (Décision 2455/2001/CE). Cette liste sera revue tous les 4 ans et comprend, par exemple, des pesticides (comme l'atrazine), des métaux lourds (le plomb, le mercure ...), des perturbateurs endocriniens (le nonylphenol). Il sera utile de détecter la présence de ces substances dans l'environnement aquatique à des concentrations très faibles ; la mesure de biomarqueurs peut, là encore, être une aide précieuse en complément de mesures chimiques. D'autant plus que les contaminants sont en général présents en cortège et que l'analyse chimique est alors mal armée pour quantifier l'exposition des organismes à ce qui est réellement biodisponible et en interaction avec les réactions de défense de l'organisme.

#### IV.2 Un besoin d'outils prédictifs et prospectifs

En parallèle de la recherche et la mise au point d'indicateurs biologiques, un des objectifs majeurs de la prochaine décennie sera d'intégrer toutes les informations depuis la source de pollution jusqu'aux conséquences au niveau des populations afin d'atteindre une échelle qui soit plus pertinente en terme de fonctionnalité des écosystèmes que les informations écotoxicologiques classiques (survie, reproduction). D'autre part, seules des approches intégrées prenant en compte la complexité des mécanismes écologiques peuvent rendre compte et prévenir d'impacts écologiques à une échelle globale lorsque les causes sont à une échelle locale.

La modélisation, une voie particulièrement négligée pour l'instant en écotoxicologie, sera alors un outil utile pour mener à bien cette intégration en aidant à la sélection des variables clefs parmi les interactions biochimiques, effets sur la reproduction, survie, la dynamique de population. Les tentatives de modélisation se sont pour l'instant surtout appuyées sur des espèces de laboratoire en choisissant des critères classiques de survie ou de reproduction.

Il se trouve que d'ores et déjà la théorie DEB (Dynamic Energy Budget) permet - à partir d'hypothèses sur l'accumulation du polluant dans l'organisme, et sur la répartition de l'énergie entre les fonctions fondamentales des organismes - de prédire la croissance, la survie et la reproduction d'organismes exposés à des contaminants (Kooijman, 2000) (Figure 2).

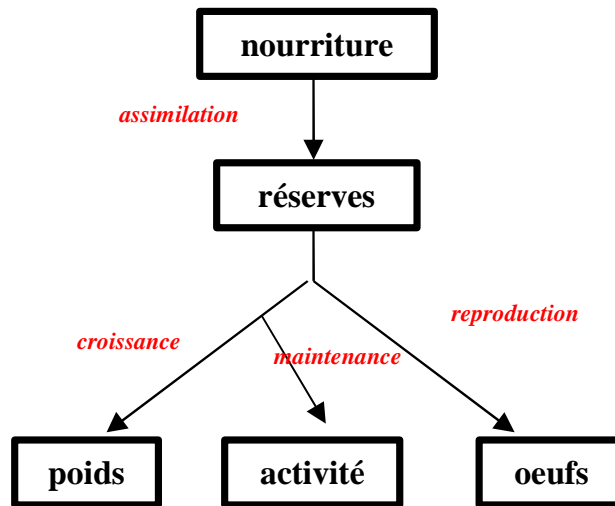


Figure 5. Représentation schématique de la répartition de l'énergie dans la théorie DEB.

A partir de ces informations on peut aisément simuler l'évolution de la dynamique de la population (matrices de Leslie, équation d'Euler Lotka) (Forbes et Calow, 1999) puis de la meta-population se répartissant entre différents sites sur le terrain (théorème d'agrégation des variables) (Auger et al., 2000).

Ces approches meta-populationnelles sont d'un grand intérêt. Autant la simulation de la dynamique de population peut apparaître comme une simple, quoique utile, extrapolation des données de survie et de reproduction, autant la simulation de la dynamique d'une population spatialement distribuée peut mettre en évidence des effets qui ne peuvent être facilement extrapolés, notamment des « effets à distance » sur des populations qui ne sont pas directement exposés à la contamination. Par exemple, lorsque l'on compare l'impact de différents scénarios de pollution dans un réseau de rivières sur la dynamique globale de populations de poissons, en prenant en compte d'une part l'influence de la variabilité spatiale de la contamination chimique (affluents/rivière principale, rive/chenal,...), d'autre part l'influence de la variabilité temporelle des concentrations de polluants, il peut être prédit que, selon l'endroit de la pollution dans le réseau de rivières, les impacts sur la dynamique de population sont différents. En effet, les adultes reproducteurs et les jeunes ne sont pas répartis de façon homogène dans le réseau (Chaumot et al., 1999). Par ailleurs, que migrations et phénomènes de répulsion par rapport à la pollution des populations peuvent entraîner la disparition de populations dans des tronçons qui ne sont pas soumis à la pollution (Chaumot, 2002).

#### IV.3 Ecologie et rénovation de la bioindication

Ce type de mise en évidence est bien loin des approches classiques d'extrapolation d'effets écologiques simulés à partir de données écotoxicologiques de laboratoire qui sont insuffisantes pour complètement appréhender la réalité in situ. Il paraît illusoire d'imaginer prédire à partir des paramètres individuels (survie, reproduction...) les conséquences prévisibles sur les populations voire les communautés (par exemple Kaiser, 1979 ; Baveco et De Roos, 1996). En effet, l'extrapolation temporelle des modèles est biaisée par la méconnaissance des ressources trophiques du milieu, des mécanismes d'adaptation, de régulation, de densité dépendance (Groenendijk et al.,

1999 ; Sibly 1999) : les approches classiques d'extrapolation, de type « bottom-up », ne peuvent réussir à elles seules en oubliant les enseignements des approches de « type top-down » (Figure 6).

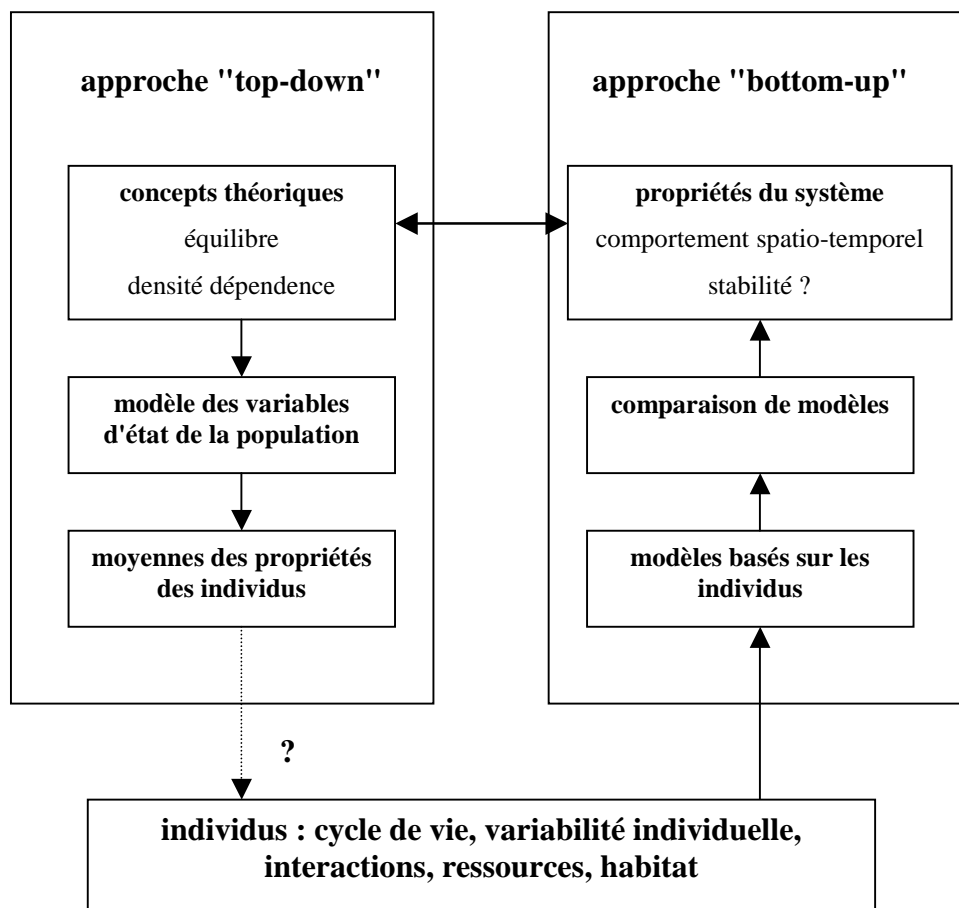


Figure 6. Relations mutuelles entre les approches "top-down" et "bottom-up" en écologie d'après Grimm (1999).

Se rajoutent les difficultés de prise en compte de la diversité des espèces et il serait raisonnable de ne s'intéresser qu'à quelques groupes taxonomiques qui soient représentatifs de l'ensemble des communautés<sup>1</sup>. Il serait alors possible de rassembler - ou d'obtenir par voie expérimentale - les paramètres nécessaires pour convenablement décrire ces taxons (biologie, écologie, écotoxicologie, paramètres synthétiques issus de la théorie DEB) puis d'en tirer les éléments qui permettent d'interpréter la « distance écotoxicologique » qui sépare les taxons sur le terrain. C'est une voie prometteuse qui permettrait de rapprocher « écotoxicologie de laboratoire » et « bioindication de terrain ».

## **V PERSPECTIVES**

Des efforts de recherche importants restent donc à mener. D'ores et déjà des apports significatifs ou aisément applicables à court terme peuvent appuyer les besoins de la Directive cadre.

Les concentrations chimiques à mesurer sont faibles (bien qu'éventuellement toxiques) et les expositions irrégulières (alors qu'il est difficile de prédire l'effet biologique d'une exposition variable). Les toxiques sont présents en cortège chacun intervenant pour partie (mais pas d'une façon additive nécessairement) dans l'effet biologique. Ce ne sont ni des dosages chimiques ni des mesures traditionnelles de bioindication mais les biomarqueurs quantifient un niveau d'interaction toxique entre l'organisme et un polluant biodisponible et ceci de façon précoce avant que des effets irréversibles n'apparaissent. Les informations données par les biomarqueurs étant peu familières, il est possible de les transformer en indices (Flammarion et Garric, 1999 ; Belliaeff et Burgeot, 2002).

Les bioindicateurs sont plus pertinents d'un point de vue écologique mais en contrepartie moins sensibles et moins spécifiques que les biomarqueurs : les effectifs de poissons et d'invertébrés dépendent d'abord des conditions d'habitat, de débit, de substrat, etc. tandis que les biomarqueurs réagissent, en premier lieu, à la contamination.

Cependant, une perturbation de type biochimique, quantifiée par un biomarqueur, n'est pas nécessairement grave pour l'organisme ou les populations (Engel et Vaughan, 1996) compte tenu de mécanismes de réparation ou de réversibilité (on peut alors parler de « faux positifs »). Cette non-linéarité entre les effets précoces (biomarqueurs) et les effets intégrés (bioindicateurs) pousse à utiliser ces deux types de mesure en intelligente complémentarité (Adams, 2001).

---

<sup>1</sup> En s'appuyant par exemple sur les études qui caractérisent les communautés d'invertébrés à partir de traits biologiques et de traits écologiques (Usseglio-Polatera et al., 2000).



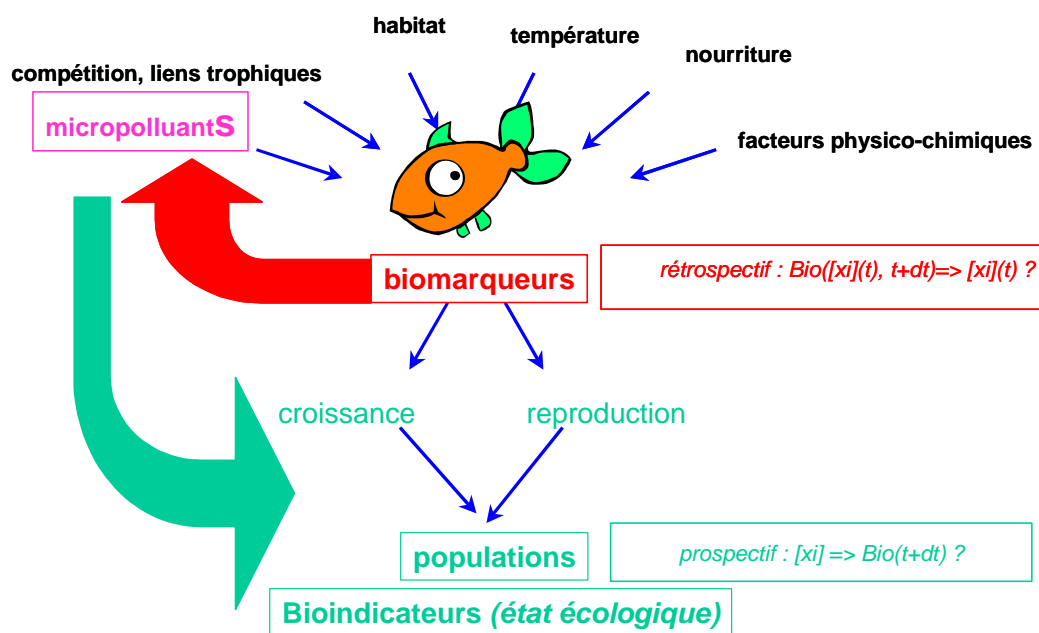


Figure 7. Positionnement respectif des biomarqueurs et bioindicateurs.

Il faut bien admettre que dans l'état actuel des connaissances, les biomarqueurs renseignent davantage sur l'exposition des organismes à des contaminants (approche diagnostique ou retrospective) que sur l'évaluation d'un risque réel pour les populations (approche prédictive) (Engel et Vaughan, 1996 ; Lagadic et al., 1998) (Figure 7).

Les indicateurs 'intégrés' (type IBGN) donnent une indication globale sur l'état de santé de l'écosystème mais cet état de santé ne dépend pas seulement de la pollution mais aussi de l'habitat, de la température etc. L'information chimique est donc diluée dans l'ensemble des contributions de facteurs causaux potentiels. Compte tenu de ces différents facteurs, il est impossible de « remonter » vers le contaminant<sup>2</sup>. Les biomarqueurs, plus spécifiques des contaminants, sont plus à même de donner un diagnostic précoce sur la nature (quel toxique) et le niveau de contamination.

On peut également s'attacher à une démarche prospective (Figure 7) en prédisant l'impact des contaminants sur les populations - bien entendu « toutes choses égales par ailleurs » (comme si l'on comparait des scénarios de contamination mais sans chercher à prédire ce qu'il va réellement se passer dans les écosystèmes, prédiction qui nécessiterait, nous l'avons vu ci-dessus, de connaître et pondérer d'autres influences que la seule contamination).

## VI CONCLUSION

Les substances chimiques présentes dans l'environnement présentent un risque sanitaire qu'il s'agit de quantifier et de gérer (Vindimian, 2002). La nouvelle Directive cadre, en assignant des objectifs de qualité des écosystèmes couplés à des seuils de qualité chimique, devrait permettre une amélioration de la qualité écologique des eaux et en parallèle une diminution du risque sanitaire.

<sup>2</sup> Ce serait comme une résolution d'une seule équation à plusieurs inconnues dont le polluant n'est qu'une des inconnues...

N'utiliser que des valeurs de concentrations en micropolluants et des indicateurs de communautés ne répond que partiellement aux enjeux de la Directive cadre. Les approches chimiques doivent progresser pour améliorer l'évaluation des concentrations réellement biodisponibles aux organismes, des métabolites des substances chimiques. Les mesures effectuées dans le cadre du SEQ doivent en tenir compte. Les indicateurs écologiques peuvent progresser vers une meilleure prise en compte du facteur contamination dans la construction, voire la modélisation, des indices. Les biomarqueurs pourraient avantageusement compléter la panoplie des méthodes.

Ces différentes variables biologiques doivent être mesurées à la fois en laboratoire (évaluation de risque a priori où davantage de variables concernant l'histopathologie, la biologie de la reproduction ou la génotoxicité pourraient être mesurées en routine) et dans le cadre d'observatoires de biosurveillance, en étant attentifs aux progrès des connaissances et des techniques qui ne manqueront pas d'arriver (chimie environnementale, protéomique, génomique, modélisation etc.), mais aussi en intensifiant le dialogue entre les disciplines : le biologiste, l'écologue et le pathologiste ne se mettront pas facilement d'accord sur le choix des "bonnes" variables à mesurer. Au moment de décider, le gestionnaire tiendra également compte de la demande sociale ce qui pourra modifier la hiérarchie des risques.

## **VII RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Adams S.M. (2001) Biomarker/bioindicator response profiles of organisms can help differentiate between sources of anthropogenic stressors in aquatic ecosystems. *Biomarkers* 6:33-44.

Auger P., Charles S., Viala M. et Poggiale J.C. (2000) Aggregation and emergence in ecological modelling integration of ecological levels. *Ecological Modelling* 127:11-20.

Baveco J.M. et De Roos A.M. (1996) Assessing the impact of pesticides on lumbricid populations: an individual-based modelling approach. *Journal of Applied Ecology* 33:1451-1468.

Beliaeff B. et Burgeot T. (2002) Integrated biomarker response : a useful tool for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 : 1316-1322.

Brion F. (2001) Effets oestrogéniques mesurés chez des poissons de laboratoire et de terrain : quantification de l'induction de la vitellogénine et liens avec d'autres variables biologiques. Thèse présentée le 23 novembre 2001 devant l'Université de Metz.

Bucheli T.D. et Fent K. (1995) Induction of cytochrome P450 as a biomarker for environmental contamination in aquatic ecosystems. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 25:201-268.

Caquet T. et Lagadic L. (1998) Conséquences d'atteintes individuelles précoces sur la dynamique des populations et la structuration des communautés et des écosystèmes. In Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., eds, *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*, Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp 266-298.

Chaumot A., Charles S., Auger P., Flammarion P. et Garric J. (1999) Development of an ecotoxicological model in an arborescent river network: an attempt with a brown trout population. *Aspects of Applied Biology* 53:131-136.

Chaumot A. (2002) Ecotoxicologie et modélisation spatiale en dynamique de population : exemple d'une population de truites exposée à une pollution dans un réseau de rivières. Thèse présentée le 13 juin 2002 devant l'Université de Lyon 1. 182 pages.

Décision n°2455/2001/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/EC. Publié au JOCE du 15 décembre 2001.

Descy J.P. et Coste M. (1988) Utilisation des diatomées benthiques pour l'évaluation de la qualité des eaux courantes. Rapport Cemagref, 49 pages.

Directive 2000/60/EC du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Publié au JOCE du 22 décembre 2000.

Engel D.W. et Vaughan D.S. (1996) Biomarkers, natural variability, and risk assessment: can they coexist? *Human and Ecological Risk Assessment* 2:257-262.

Flammarion P. et Garric J. (1999) A statistical approach for classifying the extent of EROD induction of fish sampled in clean and contaminated waters. *Water Research* 33:2683-2689.

Forbes V.E. et Calow P. (1999) Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:1544-1556.

Grimm V. (1999) Ten years of individual-based modelling in ecology: what have we learned and what could we learn in the future? *Ecological Modelling* 115:129-148.

Groenendijk D., Kraak M.H.S. et Admiraal W. (1999) Efficient shedding of accumulated metals during metamorphosis in metal-adapted populations of the midge *Chironomus riparius*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18:1225-1231.

Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. et Bergman H.L. (1992) Biomarkers : biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress. Lewis Publishers, Boca Raton. 347

Kaiser H. (1979) The dynamics of populations as result of the properties of individual animals. *Fortshr. Zool.*, 25 : 109-136.

Kooijman S.A.L.M. et Metz J.A.J. (1984) On the dynamics of chemically stressed populations: the deduction of population consequences from effects on individuals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 8:254-274.

Kooijman S.A.L.M. (2000) Dynamic energy and mass budgets in biological systems. Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, Royaume Uni. 424 pages

Kuhn A., Munns W.R., Champlin D., Mc Kinney R., Tagliabue M., Serbst J. et Gleason T. (2001) Evaluation of the efficacy of extrapolation population modeling to predict the dynamics of *Americamysis bahia* populations in the laboratory. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20:213-221.

Lafont M. (1989) Contribution à la gestion des eaux continentales : utilisation des oligochètes comme descripteurs de l'état biologique et du degré de pollution des eaux et des sédiments. Claude Bernard, Lyon I, Lyon. 105 pages

Lagadic L., Amiard J.C. et Caquet T. (1998) Biomarqueurs et évaluation de l'impact écologique des polluants. In Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., eds, Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement, Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp 299-307.

Mayer F.L., Versteeg D.J., Mac Kee M.J., Folmar L.C., Graney R.L., Mac Cume D.C. et Rattner B.A. (1992) Physiological and nonspecific biomarkers. In Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. et Bergman H.L., eds, Biomarkers : biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress, Lewis Publishers, Chelsea, pp 5-86.

Meybeck M. (1997) De la qualité des eaux à l'état de santé des écosystèmes aquatiques : pourquoi, comment, où ? Actes du séminaire « Etat de santé des écosystèmes aquatiques, les variables biologiques comme indicateurs », Cemagref éditions, pages 245-258.

Minier C., Caltot G., Leboulanger F. et Hill E.M. (2000) An investigation on the incidence of the intersex fish in Seine-Maritime and Sussex Regions. *Analisis* 28 : 801-805.

Mouthon J. (1996) Molluscs and biodegradable pollution in rivers: proposal for a scale of sensitivity of species. *Hydrobiologia* 317:221-229.

Munns W.R., Black D.E., Gleason T.R., Salomon K., Bengtson D. et Gutjahr-Gobell R. (1997) Evaluation of the effects of dioxin and PCBs on *Fundulus heteroclitus* populations using a modeling approach. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16:1074-1081.

- Sibly R.M. (1999) Efficient experimental designs for studying stress and population density in animal populations. *Ecological Applications* 9:496-503.
- Suter G.W., Norton S.B. et Cormier S.M. (2002) A methodology for inferring the causes of observed impairments in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:1101-1111.
- Tyler C.R. et Routledge E.J. (1998) Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Oestrogenic effects in fish in English rivers with evidence of their causation. *Pure and Applied Chemistry* 70:1795-1804.
- Usseglio-Polatera P., Bournaud M., Richoux P. et Tachet H. (2000) Biological and ecological traits of benthic freshwater macroinvertebrates: relationships and definition of groups with similar traits. *Freshwater Biology* 43:175-205.
- Vindimian E. (2002) Les risques sanitaires environnementaux. Cahiers du Conseil Général du GREF n°62, mai 2002, 29-35.
- Vindimian E. (2001) La surveillance biologique des impacts toxiques dans l'environnement. *Cellular and Molecular Biology* 47 supplément : 67-79.
- White J.J., Jung R.E., Schmitt C.J. et Tillitt D.E. (2000) Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure. *Critical Reviews in Toxicology* 30:347-570.