

Outils de connaissance de la pollution toxique en milieu aquatique.

Introduction

ÉCOTOXICOLOGIE:

Organismes sentinelles reflétant les niveaux de pollution ambiants (biomonitoring) et permettant de surveiller et mesurer la bioaccumulation des polluants dans les communautés vivantes.

Très utiles pour le biomonitoring de la contamination et des effets des polluants dans les milieux récepteurs.

La pollution peut avoir des effets irréversibles sur les écosystèmes comme la disparition d'espèces, la contamination de la chaîne trophique...

En plus, les coûts économiques de la dépollution sont importants (construction de stations d'épuration pour les industries, mise au point de nouveaux procédés, décontamination de sites et sols pollués...).

- Pour cela l'écotoxicologie exige une connaissance approfondie: des notions fondamentales en écologie et en toxicologie.

L'une des applications pratiques de l'écotoxicologie est la mise en place d'outils mesurant la pollution : bioindicateurs, biomarqueurs , biointégrateurs, etc.....

Ces outils sont capables d'aborder de manière globale et intégrée ces problèmes environnementaux, dans le souci d'améliorer connaissances et contrôler les phénomènes mis en cause.

Définition légale de la pollution selon :

* C.S de la maison blanche (US) (1965) :

« C'est une modification défavorable, du milieu naturel, qui apparait en totalité ou en parti comme un sous-produit de l'activité humaine, au travers d'effets direct ou indirect, altérant:

- 1.les critères de répartition des flux d'énergie ;
- 2.les niveaux de radiation de la constitution physico-chimique du milieu naturel ;
- 3.l'abondance des espèces vivantes.

Ces modifications peuvent affecter l'homme directement, ou au travers de ressource agricole, de l'eau, ou des ressources des autres produits biologiques. Elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques, les possibilités récréatives du milieu, ou en enlaidissant le milieu. >>

• **Commission de droit international :**

« Polluer, c'est une altération physique et chimique ou biologique, du fait de l'homme et qui entraîne des effets nuisibles pour la santé humaine, la sécurité, le bien-être ou pour l'utilisation des eaux, à quelque fin que se soit, ou la préservation ou protection de l'environnement. »

* **Commission Océanographique Internationale :**

« ...introduction par l'homme direct ou indirectement de substance ou d'énergie dans l'environnement marin, y compris dans les estuaires et pouvant entraîner des dommages aux ressources biologiques, des dangers pour la santé humaine, des entraves aux activités maritimes (pêche comprise), une diminution de la qualité de l'eau de mer et une réduction de ces possibilités de loisir. »

• **En résumé,**

pollution : effets de l'ensemble des composants toxiques libérés par l'homme dans la biosphère.

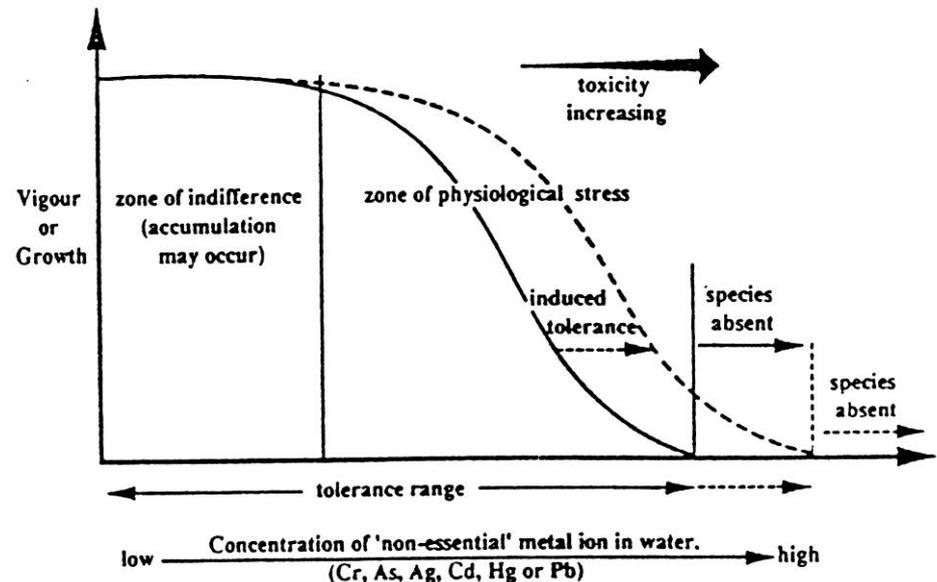
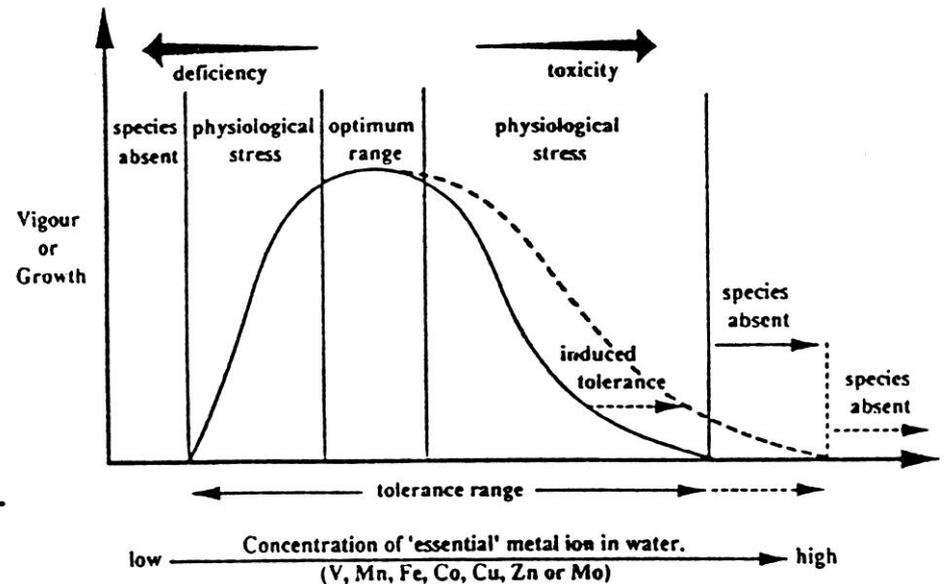
LES POLLUANTS

Polluant

Toute substance naturelle ou d'origine anthropique que l'homme introduit dans un biotope donné dont elle était absente ou encore dont il modifie ou augmente la teneur (dans l'eau, l'air ou les sols selon le biotope) lorsqu'elle y est spontanément présente.

Peut agir comme un polluant :

- Toute modification d'un processus physique qui conduit à accroître les flux d'énergie ou les niveaux de radiation dans l'environnement ;
- Espèce allochtone introduite dans un écosystème éloigné de son aire d'origine (Krishna Das)



Tout composé peut devenir un polluant, on les considère **absent de « neutralité »**.

Classification des polluants

Certains auteurs ont classé ceux-ci par rapport aux impacts et non par rapport aux polluants.

Cependant cette classification peut-être très fluctuante, suivant la nature et la concentration du polluant.

Mais quelque soit la classification, aucune méthode n'est satisfaisante individuellement dans la mesure où chaque substance a un mode d'action et de pénétration différent.

Exemple de classification des polluants

Nature du polluant

Principaux polluants

Polluants de nature physique

1. La chaleur
2. Les radio-isotopes
3. Le bruit et les vibrations à basse fréquence
 - a. Dérivés gazeux du chlore et hydrocarbures liquides
 - b. Détersifs, tensioactifs
 - c. Matières plastiques
 - d. Pesticides et autres composés organiques de synthèse
 - e. Dérivés du soufre
 - f. Dérivés de l'azote et du phosphore (ions eutrophisants)
 - g. Métaux lourds (plomb, mercure, etc.)
 - i. Matières organiques fermentescibles
 - j. Toxines algales

Polluants de nature chimique

Polluants de nature biologique

1. Les germes pathogènes (peuvent être inhalés, ou avalés) :
 - Virus
 - Bactéries
 - Champignons (levures)
2. Les parasites des animaux
 - Helminthes
 - Protozoaires

PROPRIETES DES AGENTS POLLUANTS

Chacun des agents polluants cités précédemment a des modes d'actions différents, selon:

- leurs propriétés physico-chimiques
- les conditions auxquelles ils sont soumis.

On observe que certains paramètres modifient l'impact d'une pollution :

- ⇒ la nature du rejet,
- ⇒ la dilution,
- ⇒ la dégradation du composant,
- ⇒ sa toxicité,
- ⇒ les processus de bioaccumulation et de biomagnification (ou bioamplification).

Cinq critères pour évaluer l'impact d'une substance anthropique :

- (1.) *Quantité. - ppm/ppb et μM*
- (2.) *Persistance et Temps de demi-vie*
- (3.) *Toxicité et LC50 et LD50*
- (4.) *Bioaccumulation, bioconcentration et biomagnification - KOW et autres paramètres physico-chimiques*
- (5.) *Autres – métabolites – e.g. DDT/DDE*

Polluant	Temps de demi-vie
DDT	15 ans
Lindane	2 ans
Parathion	130 jours
Malathion	11 jours

Concentrations exprimées en ppm/ppb or mM

ppm = 1 part par million = 1 gramme/10⁶grammes = 1 mg/litre ou $\mu\text{g/g}$

ppb = 1 part par billion = 1 gramme/10⁹grammes = 1 μg /litre

mM = millimole = 10⁻³moles et μM = micromoles = 10⁻⁶moles.

Etude d'exemples;

On assiste à des pollutions et des déséquilibres écologiques globaux.

- Certaines **activités anthropiques** interfèrent avec les **phénomènes biogéochimiques** et **perturbent le fonctionnement de la biosphère.**
- **Les pluies acides** résultent de la transformation respectivement **en acide sulfurique et en acide nitrique** des **oxydes de soufre et des oxydes d'azote** existant dans les atmosphères polluées.
- **Les émissions de SO₂** sont à l'origine de la plus grande partie de l'acidité forte des pluies (70%).
Ainsi, les neiges tombées à l'époque préindustrielle avaient un **pH ≥ 6**. De nos jours les records d'acidité des précipitations sont **< pH de 2.5**.

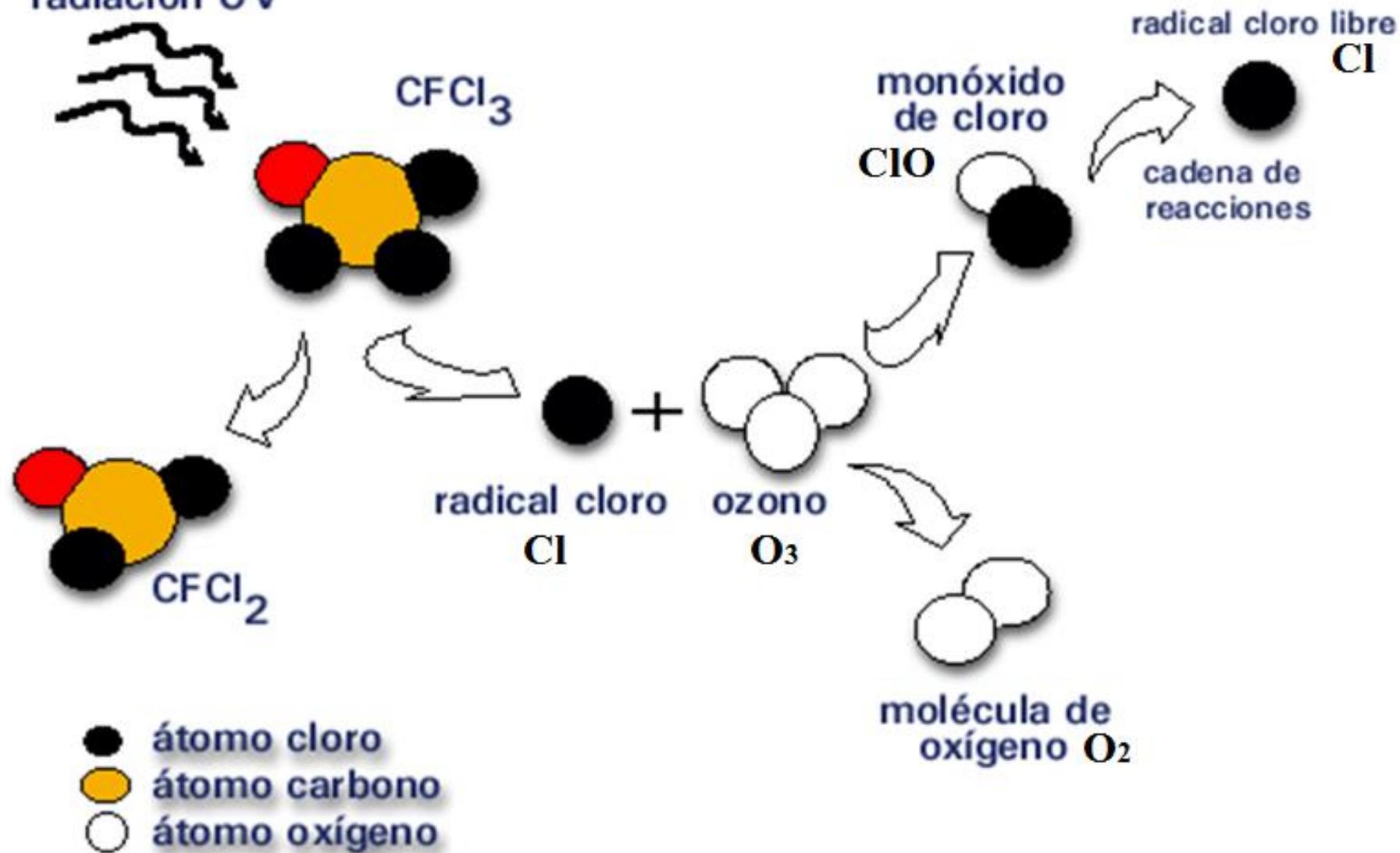
Le rejet dans l'atmosphère **d'hydrocarbures chlorofluorés** (fréons) constitue une menace pour la couche d'ozone.

Ces gaz s'accumulent dans l'atmosphère par suite de leur stabilité chimique et atteignent la stratosphère où ils vont se dissocier, libérant du chlore atomique capable de réduire l'ozone en oxygène avec production d'oxyde de chlore.

Si le chlore est naturellement présent dans la stratosphère, sa concentration a augmenté suite à la photodissociation des chlorofluorocarbones (CFC ou fréons),

Ces substances ont été utilisées **dans la réfrigération, les matériaux d'isolation (mousses de polyuréthane et de polystyrène extrudé), les systèmes de conditionnement d'air comme gaz propulseurs (aérosols).**

radiación UV



La grande stabilité de ces composés conduit à leur accumulation dans la troposphère après usage.

Après diffusion progressive **vers la stratosphère**, ils y sont **photodissociés en produisant du chlore actif capable de détruire l'ozone**.

Les **émissions de CO₂** suite aux combustions accroissent régulièrement la concentration atmosphérique en ce gaz et **perturbent le cycle biogéochimique total du carbone (réchauffement climatique)**.

Certaines conséquences des pollutions dépassent largement les effets sur telle ou telle espèce : ils se manifestent non seulement **à l'échelle de l'écosystème mais sûrement à l'échelle de toute l'écosphère**.

Notions de biodisponibilité et de biodégradation

1. Biodisponibilité

La biodisponibilité d'un polluant désigne sa capacité à entrer en contact et à exercer un effet sur les organismes cibles ((cad la propriété d'un élément ou d'une substance d'atteindre les membranes cellulaires) et non cibles voire, pour les substances sujettes à une bio-amplification, à s'accumuler dans les organismes et dans l'édifice trophique.

C'est le statut physique (adsorbé, solubilisé) ou chimique (complexé, ionisé) dans lequel se trouve un polluant et qui conditionne son écotoxicité.

Un polluant bio-disponible est un polluant auquel les organismes sont directement exposés.

Au contraire, un polluant non bio-disponible est un polluant auquel les individus ne sont pas exposés.

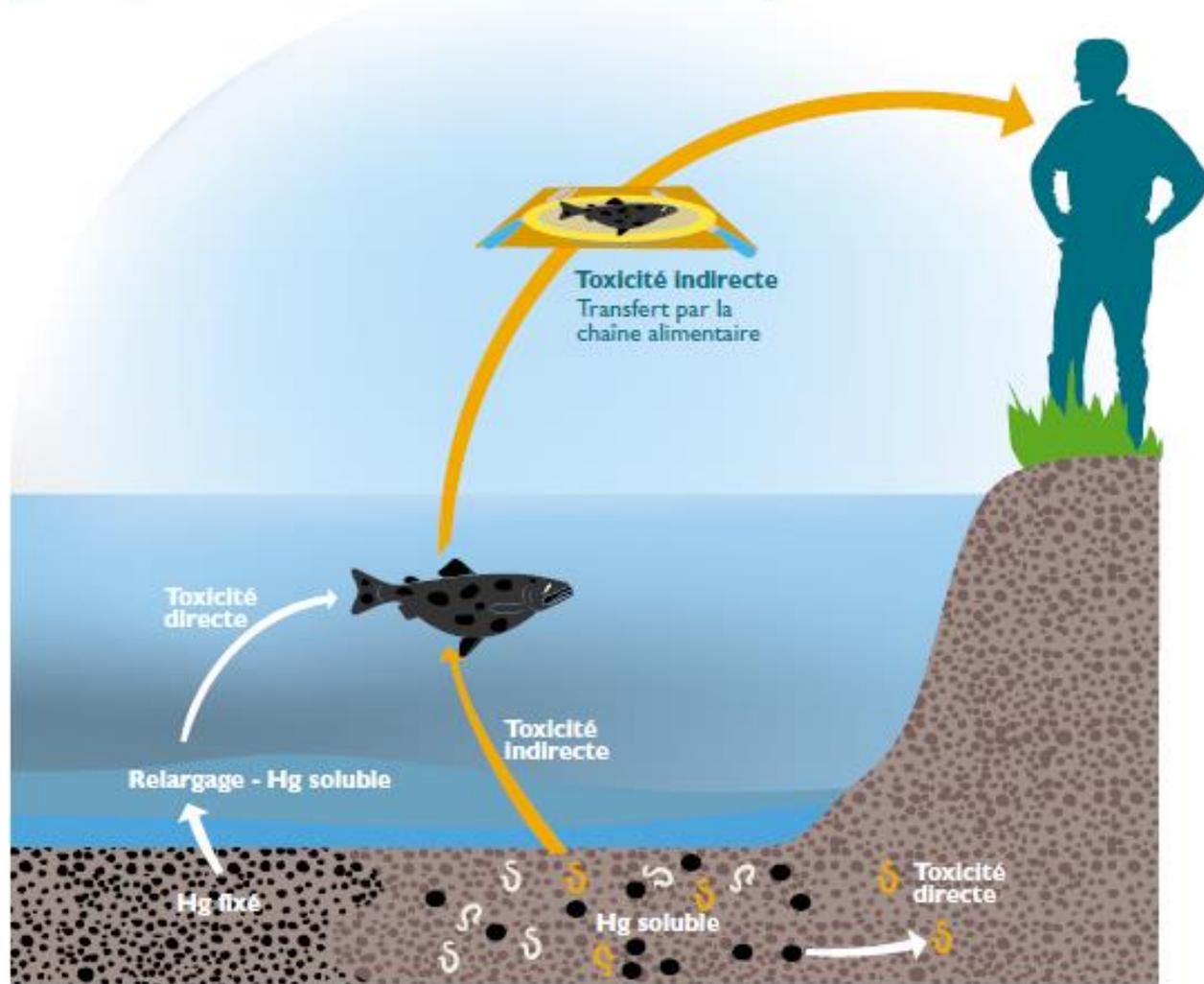
cas des polluants stockés dans les sédiments.

Lorsqu'ils sont stockés, ils ne présentent un risque que pour les organismes fouisseurs (exemple : vers, larves), les organismes vivant uniquement dans l'eau ayant peu de chances d'y être exposés (cas des poissons).

Si nous prenons l'exemple du Hg fixé dans les sédiments, il est sous forme non toxique pour les organismes qui vivent dans les sédiments car non bio-disponible.

Le Hg qui se trouve en solution dans les sédiments est, à l'inverse, toxique pour les organismes des sédiments car bio-disponible pour eux.

La biodisponibilité, paramètre essentiel de la toxicité

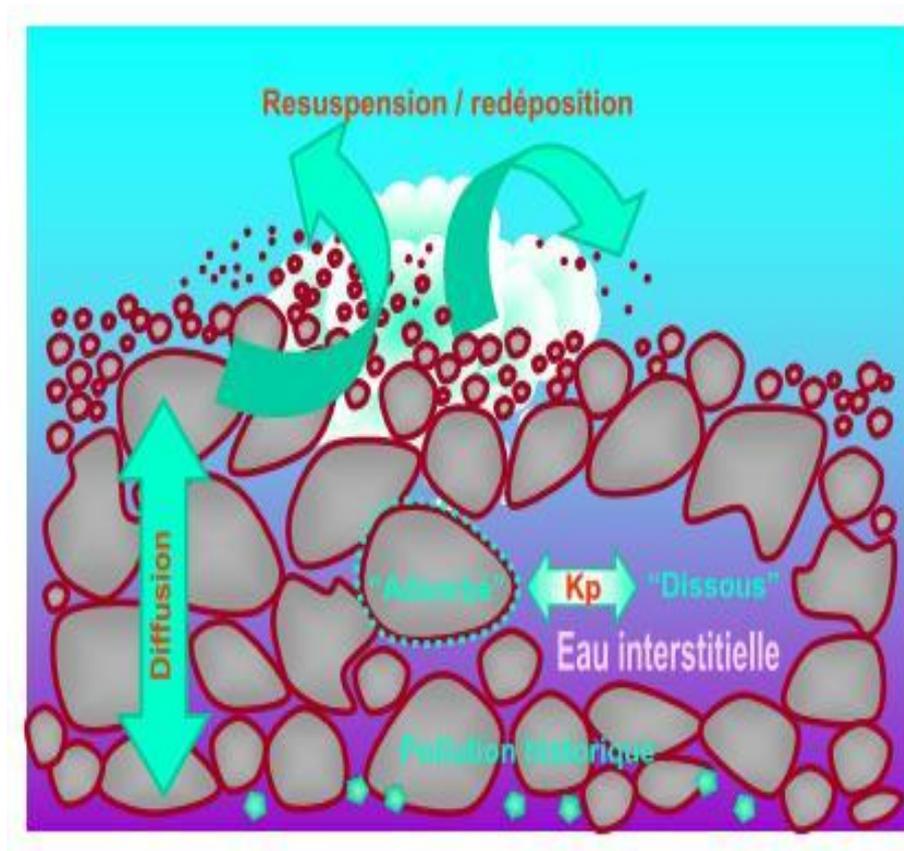


Ex. Hg fixé dans les sédiments, il est, sous cette forme, non toxique pour les organismes qui vivent dans les sédiments car non biodisponible.

Le Hg qui se trouve en solution dans les sédiments est, à l'inverse, toxique pour les organismes des sédiments car biodisponible pour ceux-ci.

Cependant, nous devons surveiller les substances toxiques des sédiments :

- d'une part en raison du **risque de remise en solution lors de crues**
- d'autre part en raison du **risque de transmission par la chaîne alimentaire.**



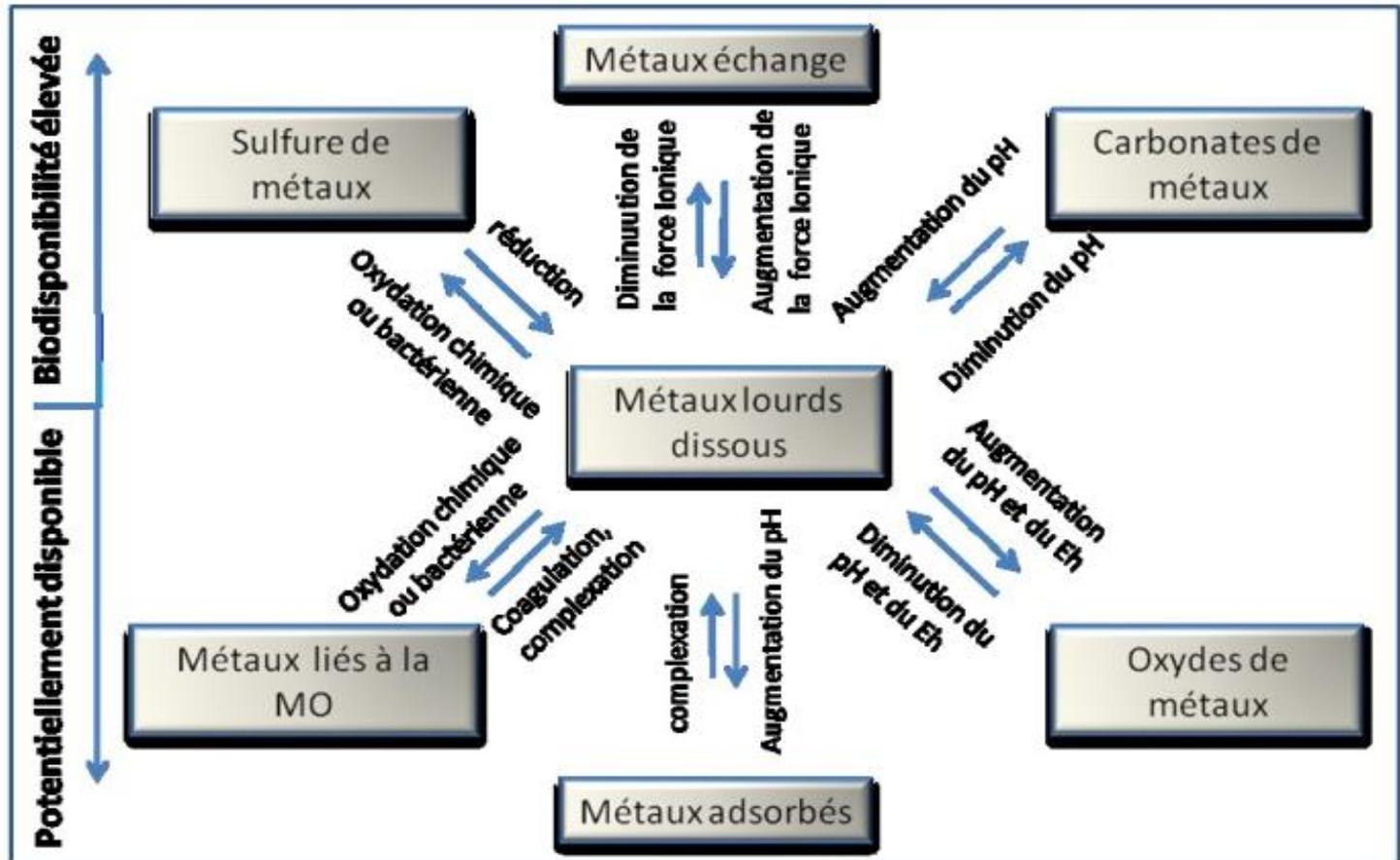
La fraction adsorbée ou séquestrée dans les couches inférieures n'est plus biodisponible ?

Mais,

- diffusion vers les couches supérieures
- resuspension de sédiments contaminés

- **Disponibilité environnementale** : Fraction du contaminant qui est présent dans un compartiment environnemental (eau-sol-sédiment) et Potentiellement disponible (interactions physico-chimiques vs mobilité);
- **Biodisponibilité environnementale** : Fraction réellement disponible pour absorption pour les organismes vivants.
- **Biodisponibilité toxicologique** : Fraction du contaminant qui atteint le site récepteur et entraîne une réponse toxique .

Distribution géochimique particulière des métaux



L'oxydation chimique et bactérienne favorise la liaison à la matière organique et la production de sulfures de métaux tandis qu'une diminution de la force ionique favorise les échanges d'ions et de métaux.

Les oxydes de métaux, les métaux adsorbés et ceux liés à la matière organique sont potentiellement biodisponibles alors que les sulfures et carbonates de métaux et les métaux faiblement liés présentent une biodisponibilité élevée.

il existe un grand nombre de métaux essentiels (Cu, Fe, Zn) et non essentiels (Cd, Hg) dans les différents compartiments de l'environnement. Les organismes sont exposés à ces métaux par trois voies d'exposition : par voie respiratoire, à travers l'épiderme et par voie trophique. Ils accumulent ces métaux traces qui sont essentiels ou non, mais qui ont tous la capacité de causer des effets toxiques dans les organismes.



Résumé des facteurs qui influencent la toxicité de métaux en solution.

Ces facteurs incluent des facteurs abiotiques (température, pH, salinité) et biotiques (âge, taille, cycle de vie, etc.).

- **Notion très importante dans l'évaluation du risque écotoxicologique** dont la pertinence repose sur l'aptitude à prédire quelle sera la fraction contaminante des micro-polluants susceptibles d'exercer une action toxique sur les organismes.
- **Plusieurs méthodes chimique et/ou biologique,** sont proposées pour estimer la biodisponibilité des substances, qui dépend à la fois des caractéristiques **physico-chimiques** du milieu et de la **physiologie** des organismes exposés.

2. Dégradation et biodégradation

Principaux facteurs régissant le devenir des substances chimiques dans l'environnement.

→ **La dégradation**: toute action physico-chimique aboutissant à la minéralisation plus ou moins complète d'une molécule.

→ **La biodégradation**: dégradation biologique effectuée par les êtres vivants (bactéries, champignons...). Elle est due à l'abondance et à la variété des micro-organismes dans le milieu considéré. L'attaque d'une molécule chimique par des micro-organismes aboutit à sa minéralisation et l'obtention de métabolites de faibles poids moléculaires.

On distingue 2 types de biodégradation

→ la **biodégradation primaire** qui est une attaque partielle de la molécule. Dans certains cas, elle peut aboutir à l'apparition de métabolites persistants, plus biodisponibles et/ou plus toxiques que la molécule initiale.

→ La **biodégradation ultime** qui est une dégradation complète conduisant à la formation de dioxyde de carbone, méthane, eau, éléments minéraux.

Cette biodégradation, si elle se fait rapidement, conduit à l'élimination du polluant dans le milieu.

Remarque

Une substance qui subit une biodégradation ultime est une substance qui présente moins de risque pour l'environnement aquatique qu'une substance qui subit une biodégradation primaire.

Principaux types de contaminants

Dégradables: matière organique sujette à attaque bactérienne (processus oxydatif générant CO_2 , H_2O , NH_3)

- Majeure partie des résidus urbains
- Lessivage des terres agricoles (engrais)
- Pollution pétrolière

Conséquence: eutrophisation

Dissipatifs

- Température (eaux de refroidissement)
- Acides et bases (pouvoir tampon de l'eau de mer)
- Cyanure (dissociés dans eau de mer)

Particulaires

- Boues de forage
- Argiles
- Contaminants organiques

Conséquences: diminution de la photosynthèse, modification de la nature des fonds, gêne pour les organismes filtrants

Exemple de Particulaires:

régression des herbiers de phanérogames marines



Conservatifs:

non sujets à attaque bactérienne, ni dissipatifs mais réactifs ou toxiques vis-à-vis des organismes vivants.

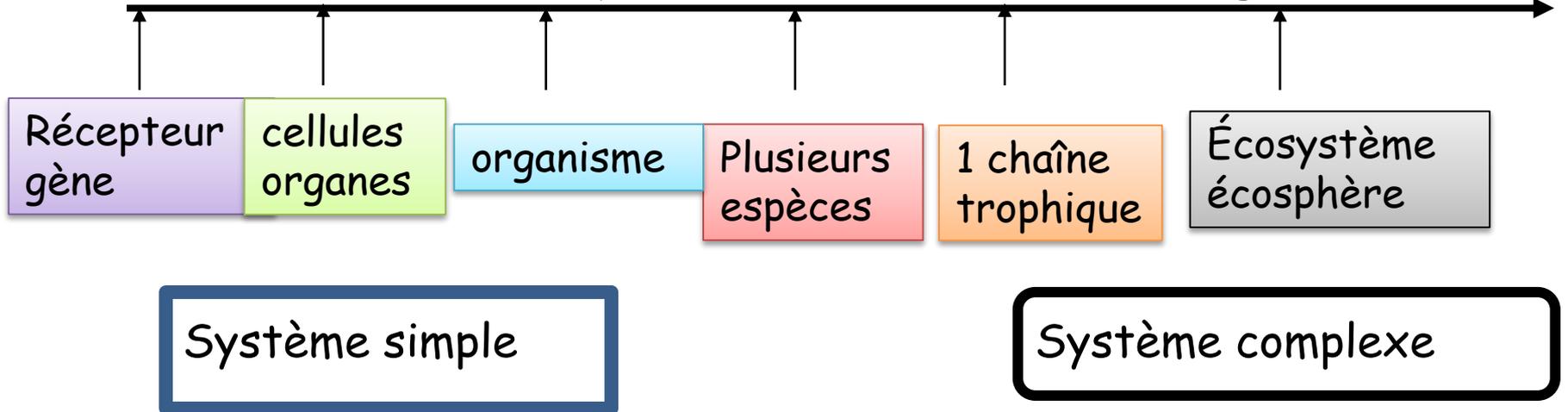
- Métaux lourds
- Hydrocarbures halogénés
- Éléments radioactifs

Mise en évidence d'une toxicité

-Par des essais toxiques

Mais aussi

- Par observation (biomarqueurs, bioindicateurs, biointégrateurs.....)



Rappel: La mesure des toxiques peut suivre deux approches :

- ❑ **Directe**: analyse physico-chimique :
détection des polluants et leur **quantification**.
- ❑ **Indirecte (biologique)** : observation **des effets des polluants** sur des organismes vivants, soit au niveau des individus, des communautés et/ou des populations.

□ **L'analyse physico-chimique** passe par des méthodes variées, tant les produits à surveiller sont nombreux :

- sels,
- métaux,
- molécules organiques naturelles (toxines) ou synthétiques.

Les méthodes:

- Certaines sont « mono-élément »,
- d'autres « multirésidus »,
- d'autres globales.

Ces méthodes d'analyses diffèrent aussi par leur sensibilité, leur justesse, leur spécificité.

□ **Les méthodes biologiques** permettent une mesure de la **toxicité de produits non identifiés ou de mélanges en prenant en compte les antagonismes ou synergies entre molécules.**

Mais les **effets toxiques varient avec chaque fonction de chaque organe ou organisme**, et il n'y a pas plus de test universel de toxicité que de méthode universelle de dosage chimique.

□ **Batteries de tests** sont souvent nécessaires (algues, bactéries, arthropodes, poissons, souris ...), et les effets à observer doivent être définis : bioaccumulation, mortalité, effets reprotoxiques, altération de biomarqueurs ...

□ **Interprétation des mesures** doit prendre en compte toutes ces caractéristiques, pour avoir une évaluation quantitative des risques.

En effet,
Analyses physico-chimiques sont indispensables
pour détecter l'absence ou la présence d'un
produit toxique.

**MAIS ne renseignent pas sur l'Impact réel du
polluant sur l'organisme vivant.**



Concept de Biosurveillance,
Biomonitoring

«Etude de la réponse biologique des organismes aux polluants »

Devenir du xénobiotique sur l'organisme

Alors, les effets des polluants → indicateurs biologiques : biomarqueurs de pollution.

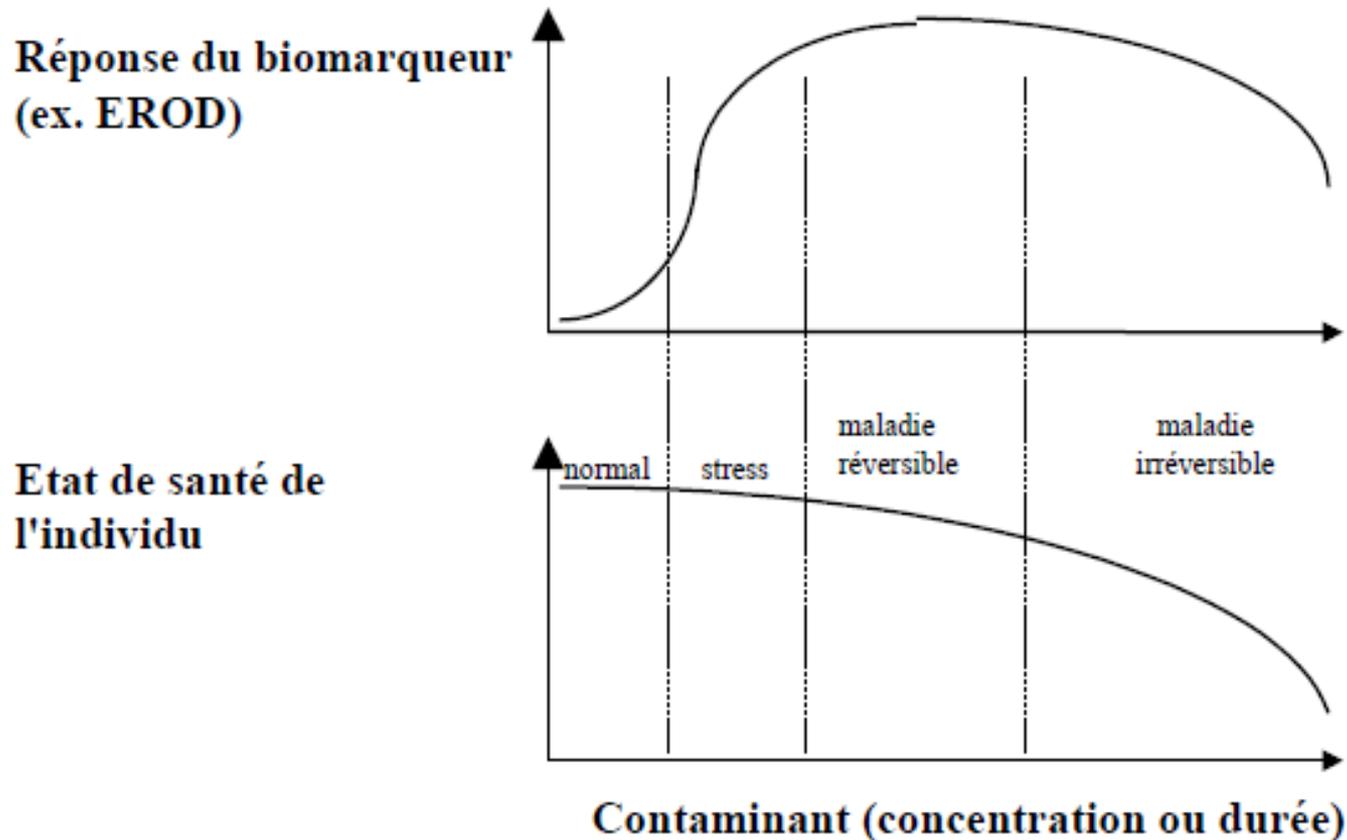
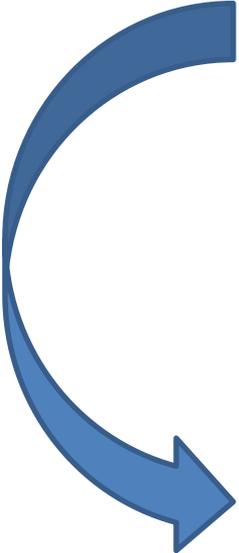


Figure 1 : Schéma de réponse d'un biomarqueur (exemple de l'EROD: hétéoxyresorufine-O-dééthylase) à la contamination (concentration ou durée) et comparaison avec l'état de santé (stress, maladie...) de l'individu (inspiré de MAYER et al., 1992 et de LAGADIC et al., 1997).

Principe de Diagnostic est la :

- mise en évidence précoce
- détection symptôme,
- révélation maladie

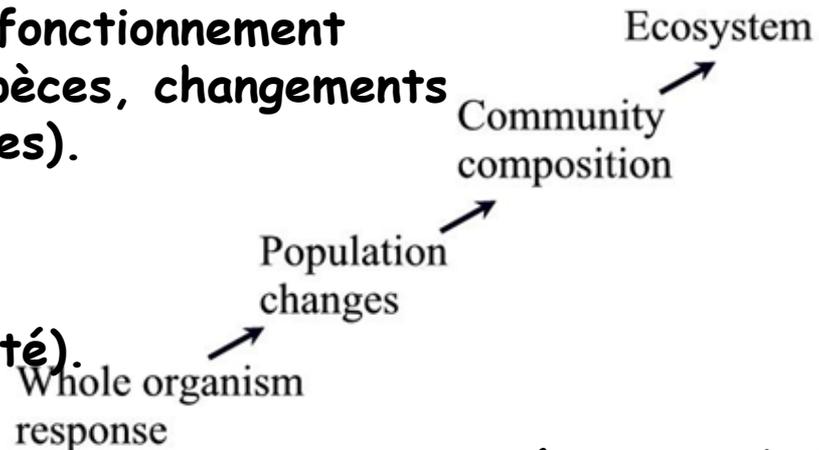


avant altération des organismes ou
perturbation sur population, sur écosystème et
biosphère.

Écosystème : son fonctionnement peut changer (rapport respiration/photosynthèse peut être affecté, même les apports de nutriments ...).

Communauté: sa structure et son fonctionnement peuvent changés (diversité des espèces, changements dans les relations prédateurs-proies).

Population: caractéristiques et dynamique de la population varier (reproduction, migrations, mortalité).



Organisme: toxicités ou conditions létales/sublétales, biotransformations, bioaccumulations dans la chaîne alimentaire, transferts dans la chaîne alimentaire).

R
é
p
o
n
s
e
s

Pollutant ——— Increasing response time —————>

————— Increasing difficulty of linkage to specific chemicals ———>

La contamination
de l'environnement

————— Increasing importance —————>



Ensemble des procédures à fondements biologiques qui peuvent servir à l'établissement de diagnostics écologiques (Goldberg, 1976)

BIOSURVEILLANCE

Evaluation globale de la qualité du milieu

Pour ceci en plus d'une évaluation physico-chimique du milieu, il faut:

« Utilisation à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution. »

Indicateurs écologiques

Pour aborder la notion **d'indicateur écologique**, il est nécessaire de situer l'outil dans son contexte.

Les indicateurs écologiques font intervenir des éléments d'écologie, à savoir les notions d'écosystème et ses composantes, les notions de facteurs écologiques et de dynamique de population ou de peuplement.

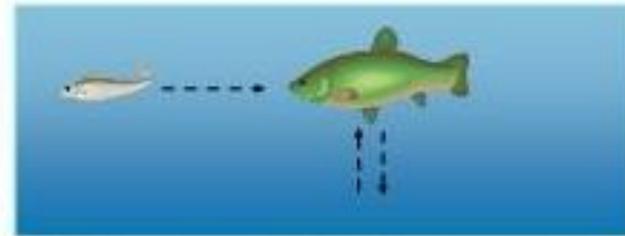
Ainsi, nous pourrions comprendre les interactions existantes entre les indicateurs, qui seront définis, et la pollution de leur milieu.

1. Notion de bioaccumulation, bioconcentration et facteur de transfert

Bioaccumulation : Accumulation par les organismes vivants de contaminants depuis le milieu ambiant (**bioconcentration**) ou depuis leur nourriture (**biomagnification**) jusqu'à des niveaux supérieurs à ceux de la contamination du milieu physique



bioconcentration (BCF) :
concentration directe par voie
aqueuse (branchies et
épiderme)



Bioaccumulation (BAF) :
concentration par voie
aqueuse et par la nourriture

Phénomène de bioaccumulation

Pour déterminer l'accumulation par les êtres vivants, on tient compte de l'absorption des polluants par :

- **voie directe (prépondérante pour les « métaux essentiels »)**,
- voie alimentaire (pour les autres métaux).

La notion de «bain» est importante en milieu aquatique.

Moins évident pour le domaine terrestre (exception faite des Amphibiens), elle l'est cependant dans le cas des pesticides pour les Lombricidés, qui sont sensibles à cette bioaccumulation.

Ce phénomène est quantifié par le facteur de concentration F_c :

$$F_c = \frac{\text{concentration dans l'organisme}}{\text{concentration dans l'eau}}$$

Exemple : cas du PCB mesure sur des Bivalves (IFREMER)

$$FC = \frac{[PCB]_{obs}}{[PCB]_{mil}}$$

$$FC = \frac{5}{0,001}$$

$$FC = \times 5000$$

Exemple d'accumulation

Contaminants conservatifs

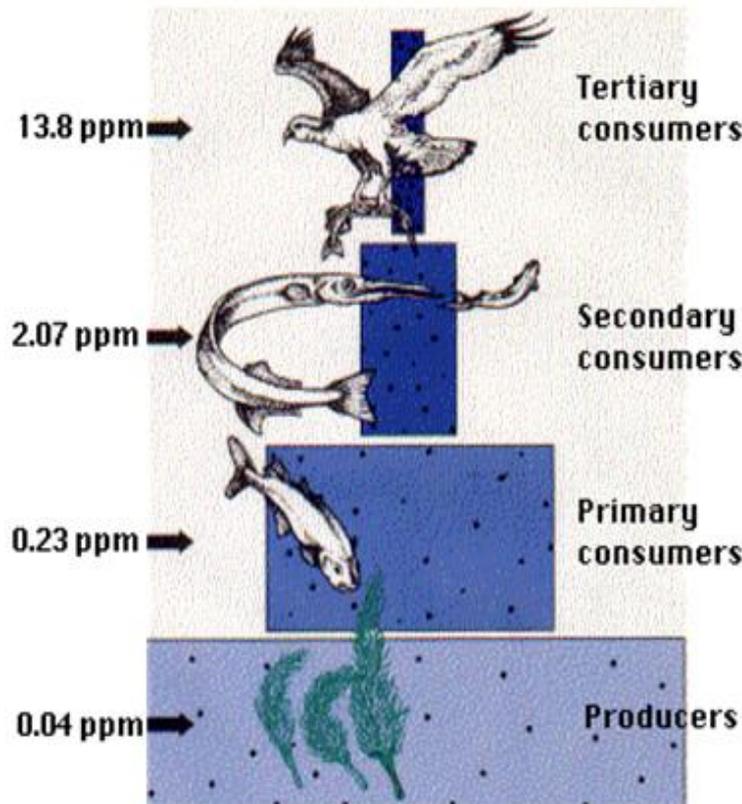
* Métaux

- Protéines spécifiques ou non
- Accumulation dans les lysosomes ou granules de l'hépatopancréas

* Organiques

- Stockage dans les structures lipidiques

Le phénomène de bioamplification est caractérisé par le facteur de transfert FT et les facteurs favorisant ce processus sont:



- * Molécules persistantes dans les biotopes (eau ou sédiment)
- * Capacités de bioaccumulation de chaque maillon
- * Faible biodégradation du contaminant
- * Taux de décontamination réduit
- * Peu d'effet toxique aux différents niveaux trophiques
- * Nourriture peu diversifiée
- * Prépondérance de la voie trophique sur la voie directe
- * Durée de vie des espèces plus élevée aux niveaux supérieurs
- * Croissance pondérale réduite

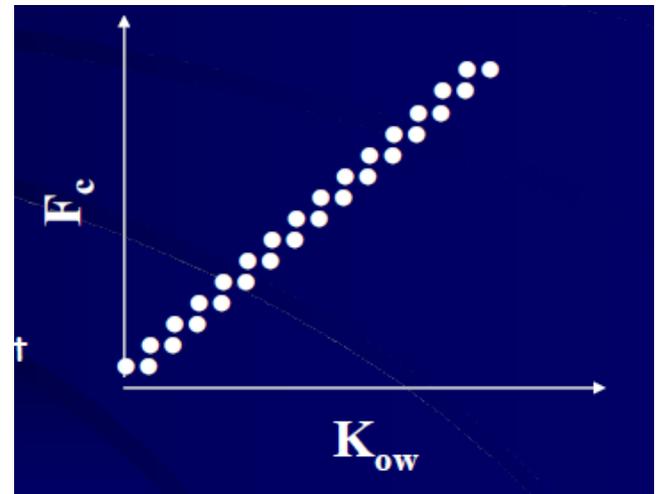
Bioconcentration :

accroissement direct de concentration d'un polluant lorsqu'il passe de l'eau dans un organisme aquatique, de l'air ou des sols dans les plantes terrestres par pénétration transfoliaire et /ou transradiculaire et dans les animaux terrestres par inhalation

Le facteur de bioconcentration dépend directement du coefficient de partage octanol-eau ou K_{ow} : mesure du degré d'hydrophobie (ou de lipophilie) d'une substance

$$\text{Log } F_c = a \log K_{ow} + b$$

Les substances présentant un K_{ow} compris entre 10^2 et 10^6 présentent **un fort potentiel à la bioconcentration**: PCB, des dioxines et la plupart des composés aromatiques polyhalogénés



Bioaccumulation : bioconcentration + biomagnification

Bioconcentration:
accumulation du polluant à partir du milieu ambiant

Biomagnification:
accumulation du polluant dans un prédateur à partir de sa proie

2. Relation entre lipophilie et bioaccumulation

Coefficient de partage octanol/eau (Kow)

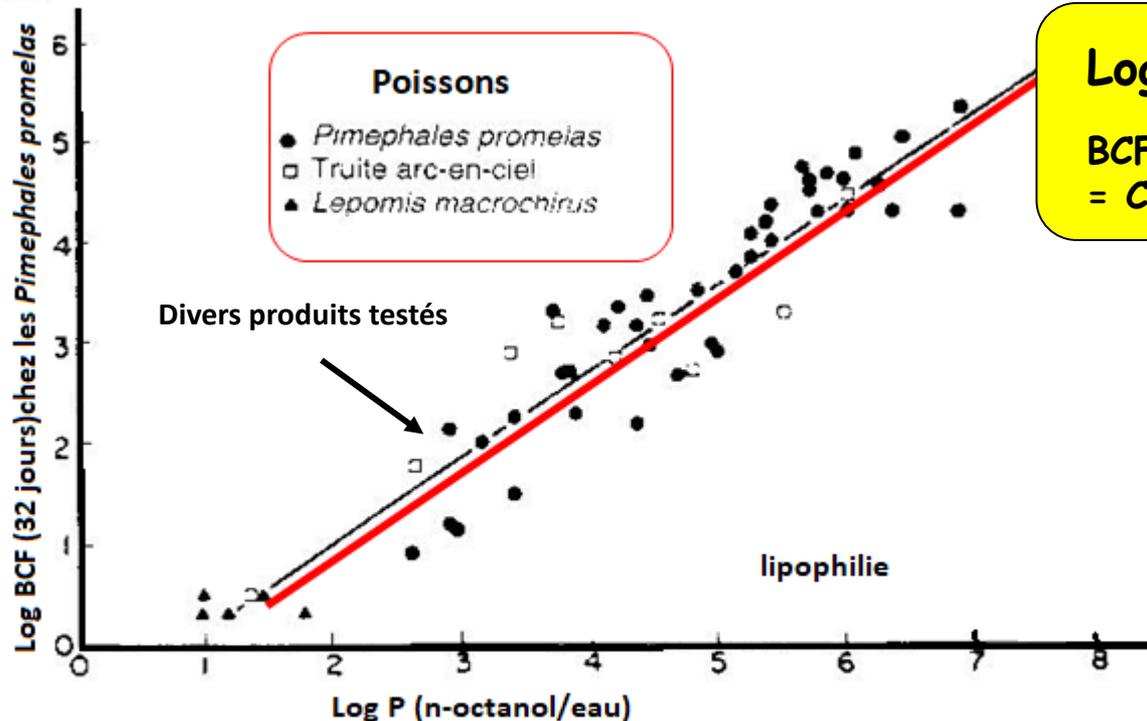
Mesure le degré d'hydrophobie (lipophilie) d'une substance chimique

$$\text{Log P} = \text{Log Kow} = \text{Log} (\text{Coct}/\text{Ceau})$$

(octanol = alcool gras)

$$\text{Log BCF} = 0,85 \text{ Log P} - 0,70$$

$$R^2 = 0,897$$



$$\text{Log BCF} = a \text{ log Kow} + b$$

BCF = Facteur de bioconcentration
= $\text{Corganisme}/\text{Ceau}$

Correlation entre le facteur de concentration biologique de trois espèces de poissons d'eau douce et le coefficient de partage n-octanol-eau.

La corrélation a été calculée pour divers produits de lipophilie croissante.

(d'après VEITH *et al.*, *Journ. Fish. Res. Board Canad.*, **36**, 1979, p. 1040).

(in Ramade F.)

3. Facteur de transfert d'un niveau à l'autre (Ft)

Au niveau du réseau trophique, les consommateurs du rang élevé présentent des concentrations plus élevées que ceux des échelons qui les précèdent. **Ex.: DTT, Hg**

(mais pas pour le Cu et Cd).

Remarque: Plus le composé toxique est stable, plus il est lipophile et plus la chaîne alimentaire est longue, plus importantes seront les teneurs en bout de chaîne.

facteur de transfert FT:

$$F_m = \frac{\text{concentration dans le prédateur}}{\text{concentration dans la proie}}$$

X1 : niveau trophique supérieur ;

X0 : niveau trophique inférieur.

$$F_T = \frac{X1}{X0}$$

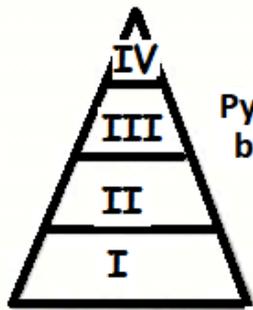
Le FT va prendre en compte ce qui est absorbé par l'organisme en

- fonction :
1. du poids de l'organisme,
 2. du niveau de contamination des proies.

C'est principalement la capacité de l'organisme à excréter une partie du polluant, qui intervient sur le FT.

$$F_T = \frac{a \times f}{m \times k}$$

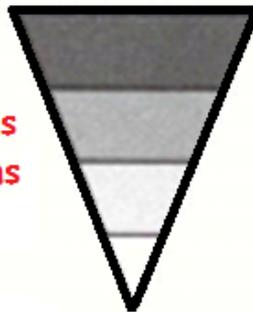
a : flux d'absorption;
 k : capacité d'excrétion ;
 f : taux ;
 m : masse



Pyramide des biomasses

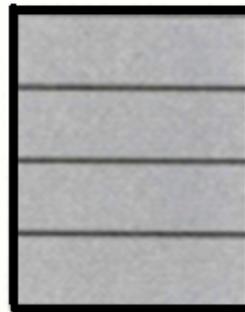
On considère trois cas : Pyramide des concentrations dans les réseaux trophiques

Pyramides des concentrations



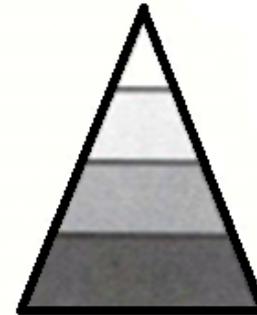
$F_t > 1$

Il y a **biomagnification ou amplification** du polluant dans la chaîne trophique. Cas des PCB, du Hg, des radionucléides. Ainsi une population de Laponie, présentait un taux important de Césium ; conséquence d'une bio-accumulation des lichens, au rennes, puis aux hommes



$F_t = 1$

Simple transfert: substance non biodégradable donc on a un transfert équivalent d'un niveau trophique X0 à X1.



$F_t < 1$

La **capacité d'excrétion de l'animal (k) est grande**. Donc, il y a une diminution de la substance le long de la chaîne. C'est le cas le plus courant. En effet, les organismes à l'exemple des bactéries intestinales mettent des barrières contre les polluants.

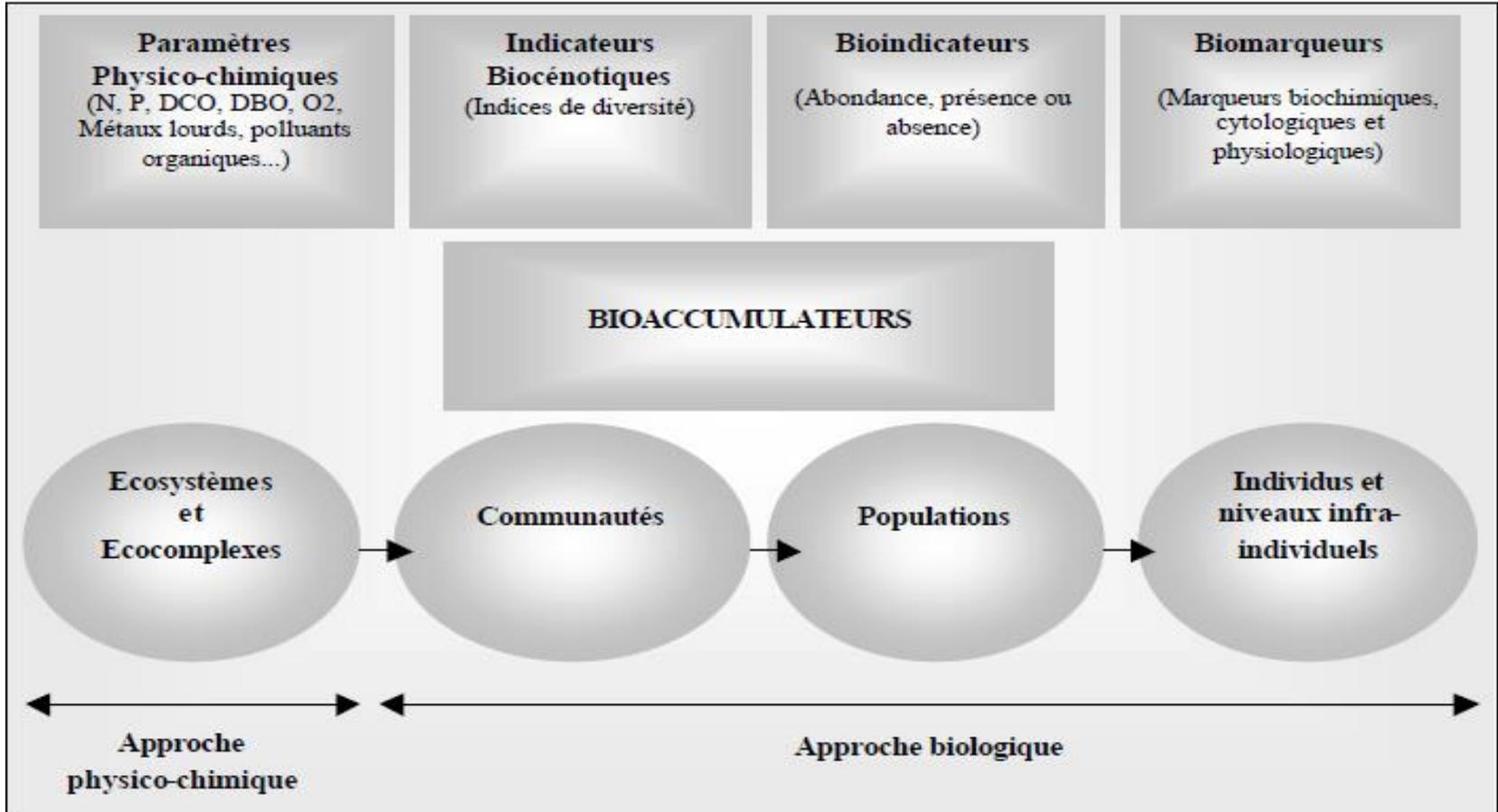
***BIOINDICATEUR**

4. Notions de:

***BIOMARQUEUR**

***BIOACCUMULATEUR**

*** BIOSURVEILLANCE**



Représentation schématique des différentes approches possibles pour l'évaluation de la qualité (d'après AMIARD, 1994).

➔ BIOINDICATEUR ou indicateur biologique

« Organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence précocement leurs modifications, naturelles ou provoquées ».

Garrec et Van Haluwyn (2002) lui donnent un sens plus restrictif et le considèrent comme « un simple relais ne faisant référence qu'à des effets observables au niveau de l'individu se traduisant par des altérations morphologiques, tissulaires ou physiologiques (croissance et reproduction) ».

Les auteurs prennent ainsi la réaction au niveau individuel.

Lorsque la réaction se situe au niveau populationnel et/ou communautaire (disparition ou apparition d'espèces, variation densitaire), on utilisera le terme **de bio-intégrateur**.

BIOMARQUEUR

« Changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins un facteur de stress »

BIOACCUMULATEUR

« Les êtres vivants ayant une responsabilité dans la concentration des polluants. En effet, il y a une augmentation de la concentration d'un polluant, lorsqu'il passe de l'eau à un organisme (par absorption et adsorption) ».

Rôles des bioindicateurs, bioaccumulateurs et biomarqueurs

BIOINDICATEUR



Indication des effets à moyen et long terme sur les populations et les communautés

BIOACCUMULATEUR



Indication des contaminants biodisponibles, donc potentiellement toxiques pour les organismes

BIOMARQUEUR



Indication d'une exposition ou d'effets précoces sur les organismes

Donc des marqueurs précoces de dysfonctionnement ultérieurs au niveau des populations

Etude des bioindicateurs

Les **BI** sont des espèces (organisme) ou des associations d'espèces qui par leur comportement général (variation en nombre, disparition, etc.) sont capables de rendre compte ou de refléter l'évolution générale d'un milieu.

Ses modifications physiologiques et morphologiques, son abondance ou son succès reproductif, entre autres, sont sensés refléter les changements que l'habitat subit (Lévêque et Mounolou, 2008)

Caractéristiques des espèces bioindicatrices

- **Les individus de l'espèce bioindicatrice** devraient présenter une corrélation identique et simple entre leur teneur en la substance polluante et la concentration moyenne de cette dernière dans le biotope ou l'alimentation, quelles que soient la localisation et les conditions environnementales .
- **L'espèce devrait être capable d'accumuler le polluant** sans être tuée ni même que sa reproduction en soit perturbée par les niveaux maximum de polluants observés dans l'environnement
- **L'espèce devrait être sédentaire** afin d'être sûr que les concentrations trouvées soient bien en rapport avec la localisation géographique considérée .

- **L'espèce devrait être abondante dans la région étudiée** et si possible avoir une distribution géographique étendue pour favoriser les comparaisons entre zones distinctes.
- **Les espèces à forte longévité** sont préférables car elles permettent un échantillonnage sur plusieurs classes d'âges si nécessaire. Elles permettent l'exposition à un contaminant pendant de longues périodes
- **L'espèce devrait être de taille suffisante pour fournir des tissus en quantité** importante pour analyser et permettre des analyses dans des organes spécifiques.
- **L'espèce devrait être facile à échantillonner et suffisamment résistante** pour être amenée en laboratoire afin d'effectuer des études de décontamination .

Rôle des bioindicateurs

- émettre des signaux précoces de problèmes environnementaux ;
- identifier les relations de cause à effet entre les facteurs d'altération et les effets biologiques ;
- évaluer l'état de stress global de l'environnement à travers différentes réponses d'organismes indicateurs
- évaluer l'efficacité de mesures réparatrices sur la santé des systèmes biologiques.

Pour atteindre ces objectifs il faut étudier un certain nombre d'organismes situés à différents niveaux trophiques et couvrant tous types d'habitats

Les anomalies physiologiques ou morphologiques des bioindicateurs peuvent être de **bons signes de changements environnementaux** (Kaiser, 2001).

Ces anomalies peuvent être des **effets secondaires indésirables, ou des adaptations** afin d'augmenter les chances de survie dans le nouvel environnement (Kaiser, 2001).

▪ Certains auteurs considèrent que **le comportement d'un bioindicateur** peut également être un facteur à étudier,

Exemples:

*la fréquence de ventilation de la truite arc-en-ciel, utilisé pour détecter la présence de substances toxiques dans l'eau (Lange et Lambert, 1995).

*La fuite, ou l'évitement d'une zone contaminée sont d'autres exemples de critères (Little, 2002).

*Cas extrême, **la mort du bioindicateur, causée par des changements physiologiques non viables, pourrait être également un critère d'évaluation.**

Les bioindicateurs permettent de caractériser :

⇒ l'état présent d'un habitat-clé

(Dale et Beyeler, 2001; Niemi et McDonald, 2004)

⇒ l'évolution de l'état de l'écosystème dans le temps

(Lévêque et Mounolou, 2008).

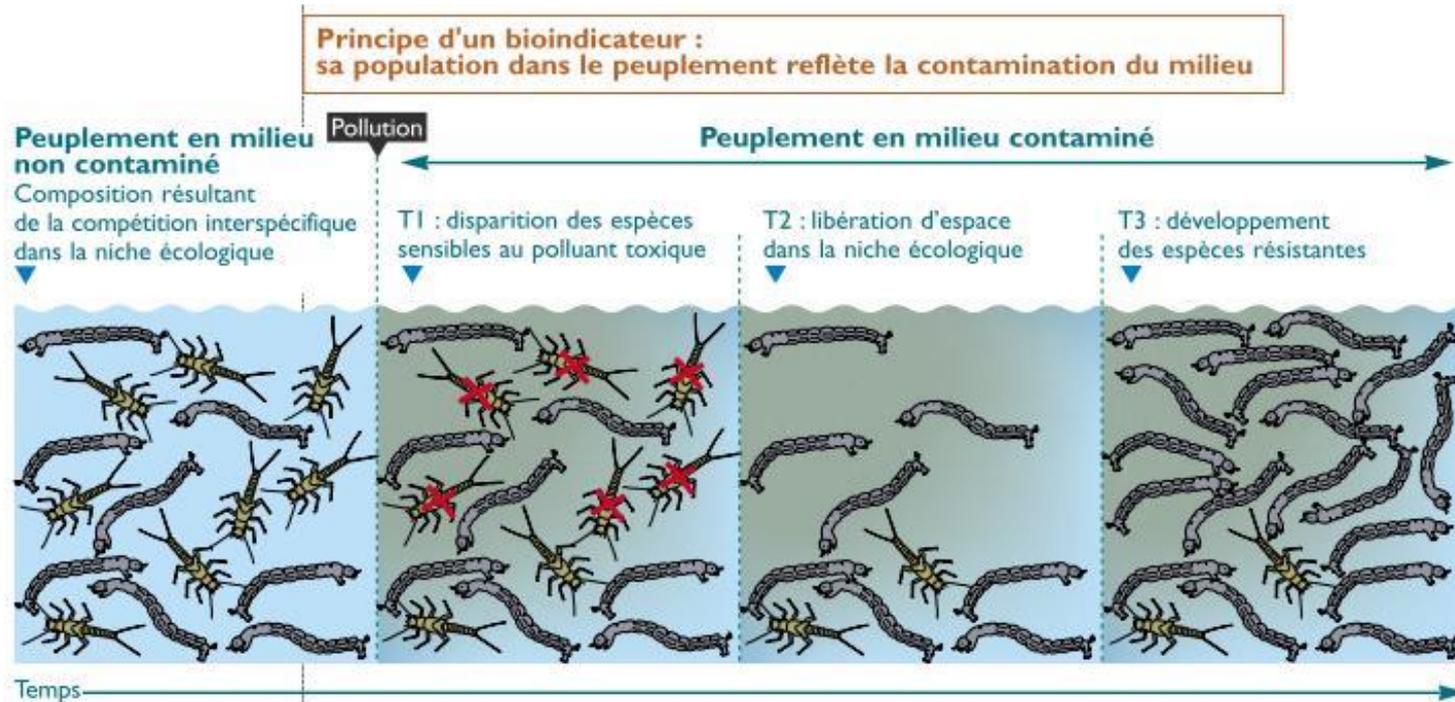
⇒ ou Identifier **une source de perturbation de l'écosystème** (Kaiser, 2001).

Par conséquent, ils peuvent ainsi constituer **un moyen de contrôle d'efficacité des mesures de conservation mises en place, et orienter les correctifs nécessaires**, le cas échéant (Lévêque et Mounolou, 2008).

Espèces indicatrices :

présence, absence, abondance, morphologie (biomarqueur?)

Ex. Présence des chironomidés



Au sein d'un peuplement, les espèces les faibles vont disparaître sous la pression du polluant et les espèces les plus résistantes se développent davantage et nous indique l'incidence écologique des micropolluants organiques et métalliques.

On peut classer les espèces des grands groupes d'organismes marins selon : leur sensibilité ou leur tolérance aux perturbations d'origine anthropique (Glémarec, 1985):

- **Espèces sensibles**, dominant largement le peuplement en conditions normales,
- **Espèces tolérantes**, parmi lesquelles certaines ne fluctuent pas de façon significative dans des conditions anormales, et d'autres prolifèrent lorsqu'il y a une perturbation,
- **Espèces opportunistes**, supportant aisément des conditions de perturbation extrêmes.

Espèce sentinelle : toute espèce vivante susceptible d'être utilisée en tant qu'indicateur de la présence ou de la toxicité d'un contaminant

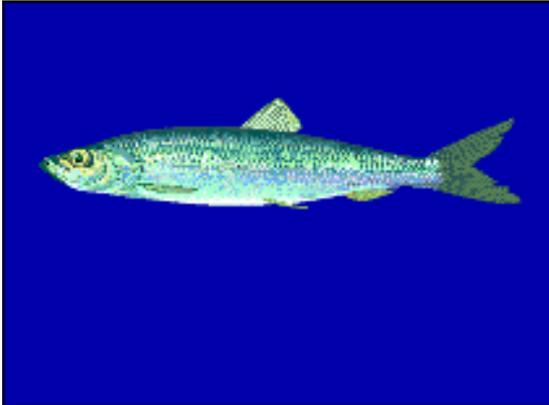


«Dans un milieu équilibré, la croissance des algues est limitée par les quantités d'azote qui, naturellement, sont relativement faibles»

Ulva et azote

Espèces à risque

Espèces indispensables au bon fonctionnement de l'écosystème ou intéressantes du point de vue économique
pollinisateurs en milieu terrestres, harengs, prédateurs



Espèces-cibles

Espèces exposées à
dessein à certains biocides

Le moustique exposé au DDT

Pour évaluer l'état d'un milieu aquatique, les gestionnaires recourent aux indicateurs normalisés tels que:

- l'indice biologiques des macrophytes,
- l'indice macro-invertébrés benthiques,
- l'indice biologique des poissons,
- **l'indice biologique des diatomées**
- l'indice biologique des oligochètes .

Ces **bioindicateurs** ont pour avantage d'être très représentatifs du fonctionnement écologique d'un écosystème .

En revanche, ils donnent peu d'informations quant aux effets sub-létaux, c'est-à-dire survenant avant la disparition d'un organisme.

En outre, s'ils sont sensibles à des altérations physiques ainsi qu'aux apports de matière organique, ils **répondent peu à l'apport de micro-polluants dans le milieu.**

Le choix des bioindicateurs



Algues

- Intégration de la physico-chimie sur un mois
- Indicateur d'eutrophisation (N, P, M.O.)
- Indicateur de pH, salinité, métaux lourds
- Sensibilité élevée, pollutions faibles à moyennes
- Possibilité de suivre de nombreuses stations



Invertébrés

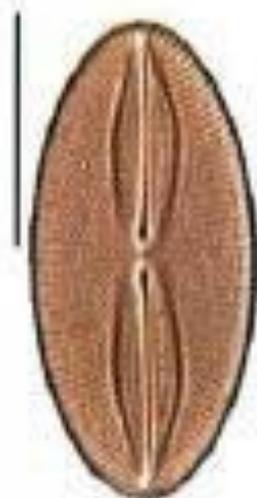
- Intégration sur quelques mois à un an
- Indicateur d'habitat
- Indicateur de qualité de l'eau (M.O., O₂, etc.)
- Possibilité de réaliser un suivi volontaire



Poissons

- Intégration sur un an et plus
- Indicateur écosystémique
- Indicateur général de qualité de l'eau
- Indicateur toxicité, substances bioaccumulables
- Intérêt du grand public

Exemples de diatomées des eaux de mauvaise qualité



Fallacia pygmaea



*Craticula
cuspidata*

*Gomphonema
pseudoaugur*



* Le trait présent à côté de chaque Diatomée représente 10 μm .

Exemple d'espèces sentinelles (ou bio-indicateurs)



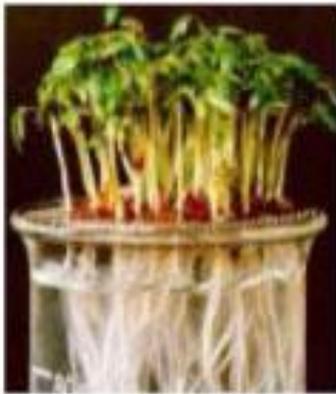
Daphnia



Lichens



Moules



Plantes



Huîtres



Palourdes

Etude des bioaccumulateurs

Les êtres vivants ont une responsabilité dans la concentration des polluants. En effet, il y a une augmentation de la concentration d'un polluant, lorsqu'il passe de l'eau à un organisme (par absorption et adsorption). On parle aussi de bioconcentration.

Accumulation de contaminants au niveau des organismes

Selon de nombreux auteurs (Phillips & Segar, 1986 ; Rainbow & Phillips, 1993) : **L'intérêt de l'étude de la bioaccumulation des contaminants par les organismes marins pour évaluer la qualité du milieu aquatique** réside dans :

- leur **capacité de rétention et d'accumulation de micropolluants** difficilement détectables directement dans l'eau de mer,
- leur **intérêt dans le suivi spatial (gradients de pollution) et temporel de la contamination du milieu marin.**
- le **suivi de la contamination de la chaîne alimentaire** dont les applications se traduisent en terme de santé publique mais aussi en terme d'impacts écologiques de la contamination du milieu.

Bioaccumulateurs modèles

- **Espèces opportunistes**, tolérantes faces aux perturbations de l'environnement.
- **sédentaires et abondantes** sur les sites à étudier.
- **faciles à récolter et à identifier.**
- **Accumule et non pas régule les contaminants** et donc reflète les variations de la qualité chimique du milieu

Exemple de limitation de l'utilisation de certains bioaccumulateurs:

L'utilisation des bivalves sauvages dans les réseaux de surveillance présente des inconvénients :

leur durée de vie trop courte et leur métabolisme fluctuant peuvent influencer l'accumulation des contaminants.

Pour pallier à ce problème:

l'IFREMER et l'Agence de l'Eau RMC ont développé un programme de transplantation de moules en Méditerranée.

Les campagnes de 1996 et 1998 ont permis l'élaboration et la validation des « stations artificielles de moules » à l'échelle d'une façade maritime.

Ce nouveau concept est prêt à être intégré dans les systèmes d'évaluation de la qualité des eaux littorales.

Dans l'optique d'une couverture globale des sources de contaminants de l'environnement, 3 groupes d'organismes sont recommandables pour une intégration à court ou moyen terme dans un système d'évaluation de la qualité du milieu marin:

• **Végétaux: algues et phanérogames marines**
sources dissoutes de contaminants

• **Filtreurs: Bivalves et Spongiaires**
sources particulières et dissoutes de contaminants (Ex: Huitres et zinc)



• **Détritivores: Vers polychètes, Crustacés et Poissons:** *contaminants accumulés dans les sédiments*

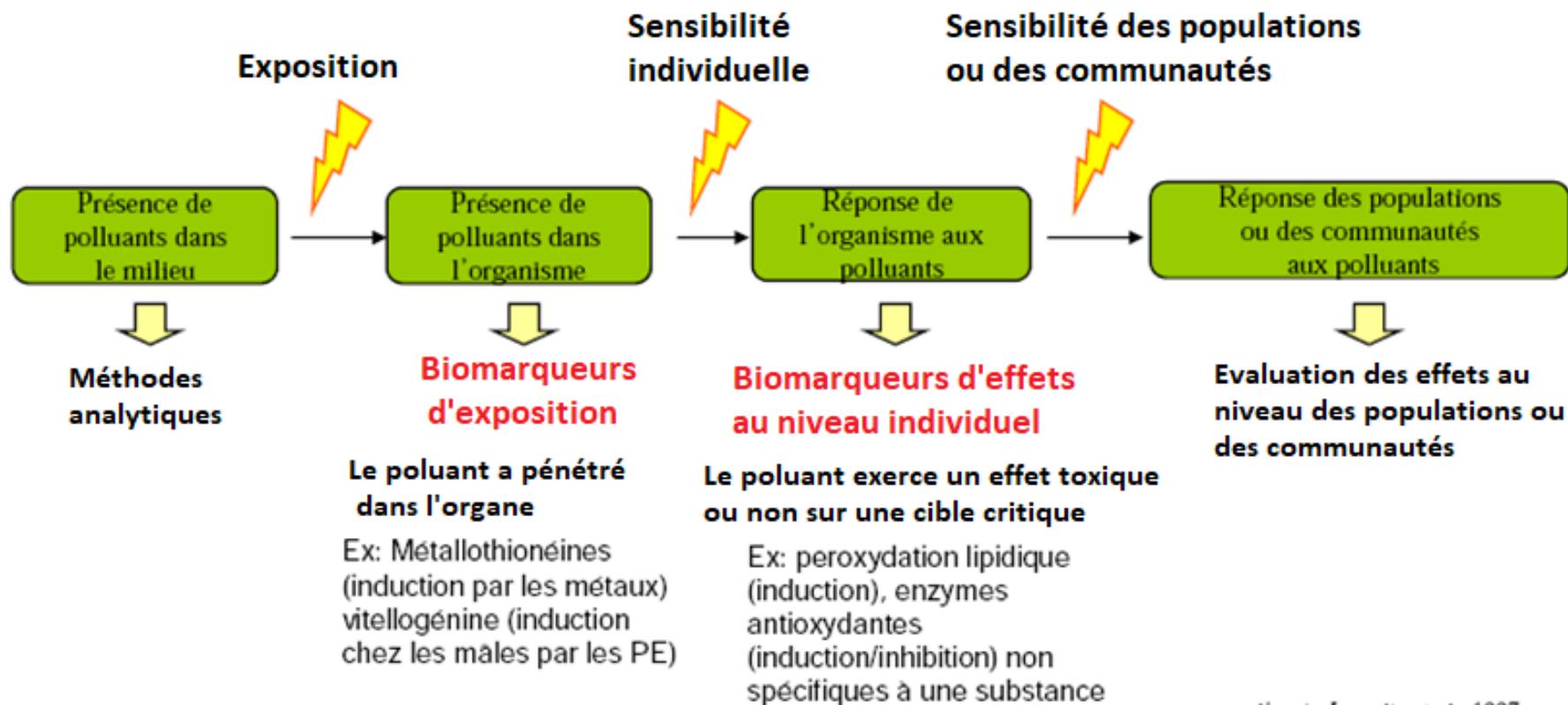
Intérêt d'étude des biomarqueurs

Paramètres biologiques de réponses sub-létales et d'effets des polluants sur des organismes aquatiques. Cette définition inclut un certain nombre de paramètres:

- ⇒ moléculaires,
- ⇒ cellulaires et
- ⇒ Physiologiques

qui peuvent, en principe, être mesurés par des méthodes peu coûteuses (Lagadic et al., 1997).

Le développement et l'utilisation de marqueurs biochimiques mesurés au niveau de l'individu est une méthodologie complémentaire des mesures biocénotiques et analytiques plus classique.



d'après Lagadic et al., 1997

Certaines substances toxiques sont présentes à des doses infimes (ng) dans les cours d'eau, avec des effets importants sur les organismes vivants.

Selon le mode d'action des molécules toxiques, on observe des impacts sur le :

- système nerveux,
- organes de la reproduction,
- matériel génétique ou
- système immunitaire.

Ce sont ces changements ou altérations biologiques appelés biomarqueurs, que les chercheurs tentent d'identifier dans les organes, les tissus ou les cellules d'espèces cibles cas des gammars.

Les biomarqueurs donnent un signal précoce d'une exposition aux contaminants de l'environnement.

Exemples de biomarqueurs (poissons, invertébrés et périphyton)

Échelle Interprétation potentielle	Moléculaire/cellulaire Alarme	Tissus Dommage effectif	Organisme entier (animal) Pronostic sur la performance	Organisme entier (végétal) Pronostic sur la performance
Type de perturbations				
Altération du développement			Déformation larvaire	Déformation cellulaires
Métabolisme Stress général	Allocation énergétique celulaire (AEC), stabilité lysosomale, stress oxydatif	Histologie	Indice de condition (poids organe/poids organisme ; taille/poids), résistance à l'exondation (bivalve)	Qualité de la production photosynthétique
Métabolisme Défense	Protéines multi, xénobiotique, résistance (MXR), métallothionéines (MT), cytochrome P450 induction (EROD), glutathion-S-Transférase, phytochélatines			
Neurotoxicité	Acétylcholinestérase (AChE)			
Reprotoxicité	Vitellogénine (Vtg)	Histologie	Imposex, intersex	
Génotoxicité	Adduits ADN, essai comète, micronoyaux			
Taux physiologique			Battement cardiaque, consommation d'oxygène, nutrition	Respiration, composition lipidique
Comportement			Mouvement	Mouvement

On distingue plusieurs types de biomarqueurs

Biomarqueur d'exposition: indique que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme (estime la dose interne). Généralement, il est le résultat d'interactions avec des molécules naturelles ou des liquides biologiques. Sans donner d'information sur le degré éventuel de toxicité (ex: métallothionéines)



Biomarqueur d'effet : indique, qu'après avoir pénétré, le polluant s'est répandu dans les différents tissus, en exerçant des effets toxiques ou non (altération d'une structure ou fonction).

Difficulté d'évaluer les conséquences de la contamination des individus sur des niveaux d'organisation biologiques plus élevés (populations, communautés), et enfin difficulté sur l'écosystème.

Biomarqueur de sensibilité : sont des composés qui traduisent les variations de la sensibilité (génétique).
Cette variation peut être une diminution de la sensibilité et donc **elle est appelée résistance** (concerne des modifications géniques)

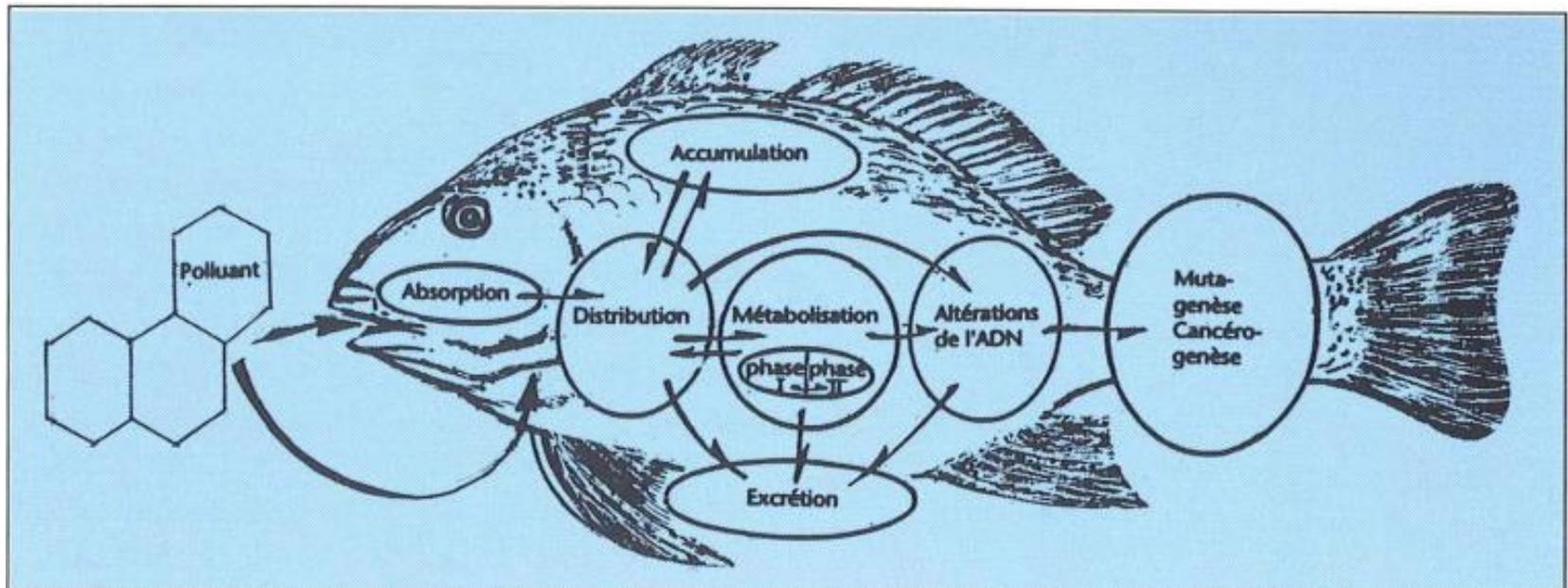
Biomarqueurs de susceptibilité : indicateurs de la capacité innée ou acquise d'un organisme à répondre à l'exposition à une substance xénobiotique spécifique
Exemples N-acétyl transférase, glutathion-S- transférase, enzyme du cytochrome P450, glucose-6-phosphate deshydrogénase, etc.....

📌 **Biomarqueurs biochimiques et cellulaires courants en écotoxicologie pour une recherche d'exposition et/ou d'effet**
(d'après Vasseur et Cossu-Leguille, 2003).

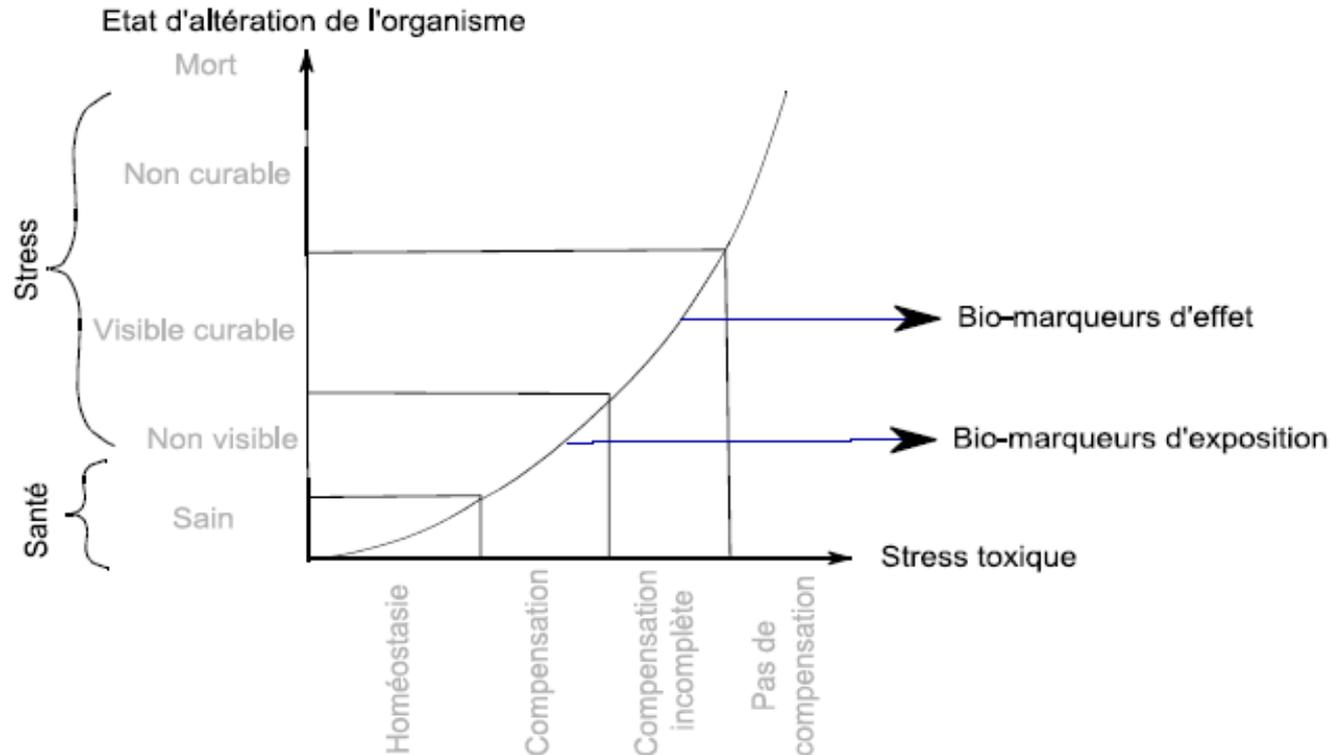
	Biomarqueurs	Commentaires	Effets	Substances chimiques
Biomarqueurs d'exposition	CYP 1A1, expression et activité EROD, BaP hydroxylase, Glutathion-S-transférase	Les activités monooxygénases impliquant diverses isoformes de cytochromes P450 (la mesure la plus connue est l'induction de l'activité enzymatique EROD) sont impliquées dans le métabolisme des composés endogènes lipophiles, et sont inductibles par des substances exogènes.	Induction	Pesticides organochlorés, PCBs, dioxines, HAPs, BaP, non spécifique
	Protéines multi, xénobiotique, résistance (MXR)	Les protéines de transport membranaire (système MXR/MDR) peuvent être induites ou inhibées par diverses substances organiques. C'est un mécanisme de défense cellulaire qui permet à la cellule transporter des métabolites ou des xénobiotiques.	Induction/ inhibition	Substances organiques (HAPs, PCBs et métabolites...)
	Acétyl cholinestérase	Activité enzymatique du métabolisme de neurotransmetteurs.	Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Vitellogénine	Protéines de réserves des œufs synthétisés dans le foie.	Induction (mâle)	Perturbateurs endocriniens
	Métallothionéines/ phytochélatines, protéines de stress	Les métallothionéines (MTs) et phytochélatines (PCs) normalement exprimées dans les tissus, impliquées dans l'homéostasie des métaux, peuvent être surexprimées en présence de métaux, mais aussi de composés organiques aromatiques inducteurs de stress oxydatif cellulaire.	Induction	Métaux, autres xénobiotiques
	Domage ADN, adduits ADN	Les polluants (HAPs, organiques persistants...), comme des facteurs physiques, peuvent altérer de différentes façons l'intégrité de la structure de l'ADN (cassure simple et double brin, liaison ADN, dommages chromosomiques), soit directement soit <i>via</i> leurs métabolites.	Occurrence	Mutagènes, génotoxiques
Domage ADN	Occurrence		Mutagènes, génotoxiques ?	
Biomarqueurs d'effet	Acétyl cholinestérase		Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Peroxydation lipidique	Des polluants peuvent augmenter les niveaux cellulaires de molécules oxygénées fortement réactives (ROS), soit par une induction de synthèse soit par une inhibition des mécanismes de défense. Lorsque ces derniers sont débordés les lipides membranaires, les protéines cellulaires sont endommagées par des réactions de peroxydation. Ces processus peuvent être mesurés et utilisés comme indicateurs de stress.	Induction	Non spécifiques
	Enzymes antioxydantes		Induction/ inhibition	
	Intégrité lysosomiale	La stabilité de la membrane semi-perméable des lysosomes est un indicateur de l'état de la cellule.	Diminution	

Un biomarqueur d'exposition est utile s'il est capable d'établir la relation qui existe entre sa concentration dans un tissu biologique et la dose absorbée, la charge corporelle, la concentration aux organes cibles ou l'effet attendu.

De la l'importance de la connaissance de la toxicocinétique et de la toxicodynamique de ce biomarqueur d'exposition ou de celle de la substance dont ce biomarqueur d'exposition découle si celui-ci est un métabolite de la substance dont on analyse l'impact.

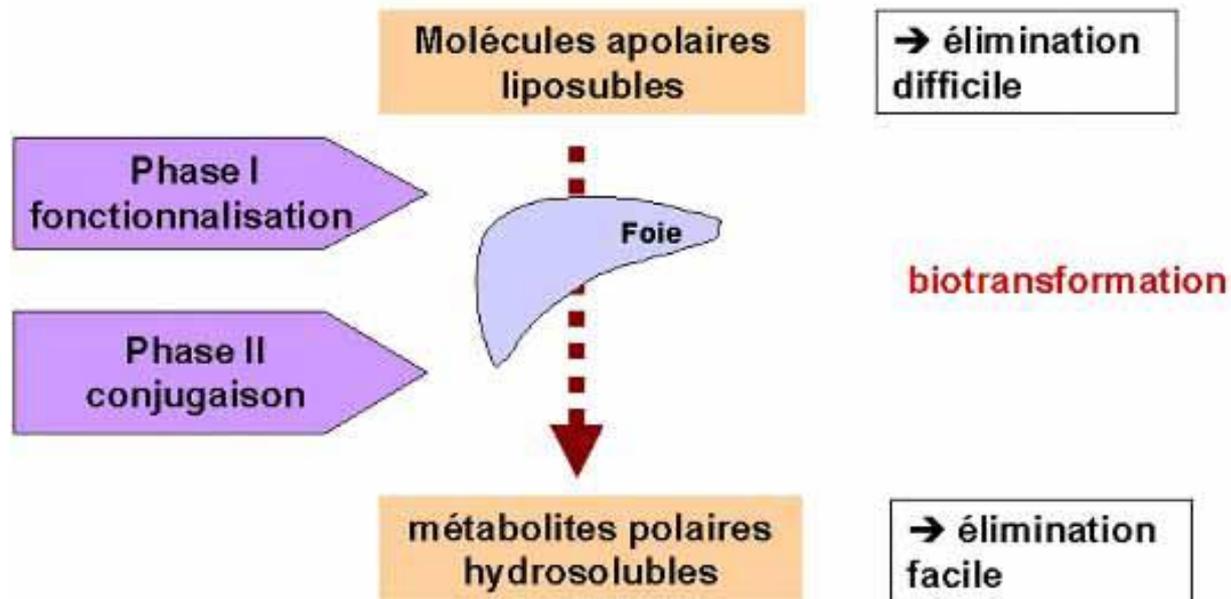


Les biomarqueurs à l'échelle de la population et de l'individu, d'après [Depledge, 1994]



Remarque: L'unité biologique du monde vivant rend possible l'utilisation des mêmes types de biomarqueurs chez des organismes appartenant à des groupes taxonomiques très variés du règne animal et végétal.

Mesures d'effets biologiques-les biomarqueurs



Phase I = phase de fonctionnalisation

Oxydation rendant la molécule plus polaire. Ce mécanisme est assuré par les complexes multienzymatiques dépendants du cytochrome P450.

La distribution des monooxygénases à P450 (ou **MFO** pour **Multi-Function Monooxygenase**) semble universelle

1. Monooxygénases à cytochromes P450
2. Hydrolyses

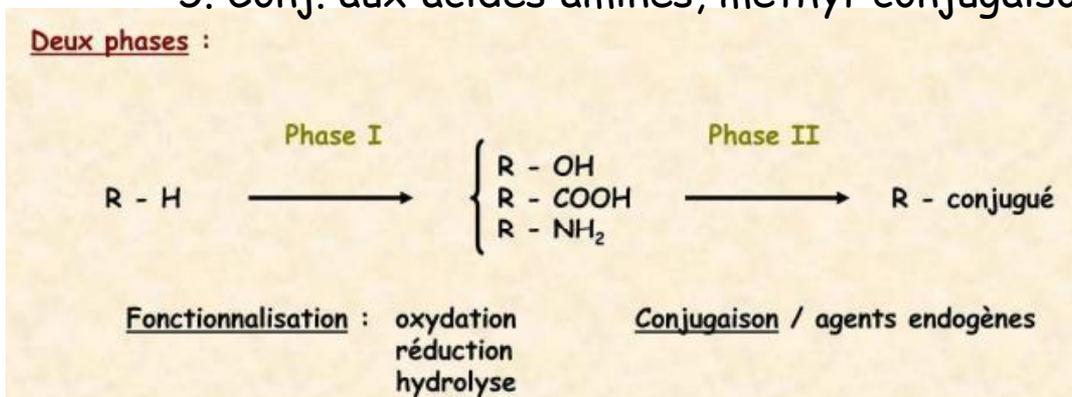
Phase II = phase de conjugaison

Le plus souvent indissociable de la phase I :
la phase I prépare le xénobiotique pour la **conjugaison**, étape finale de la détoxification.

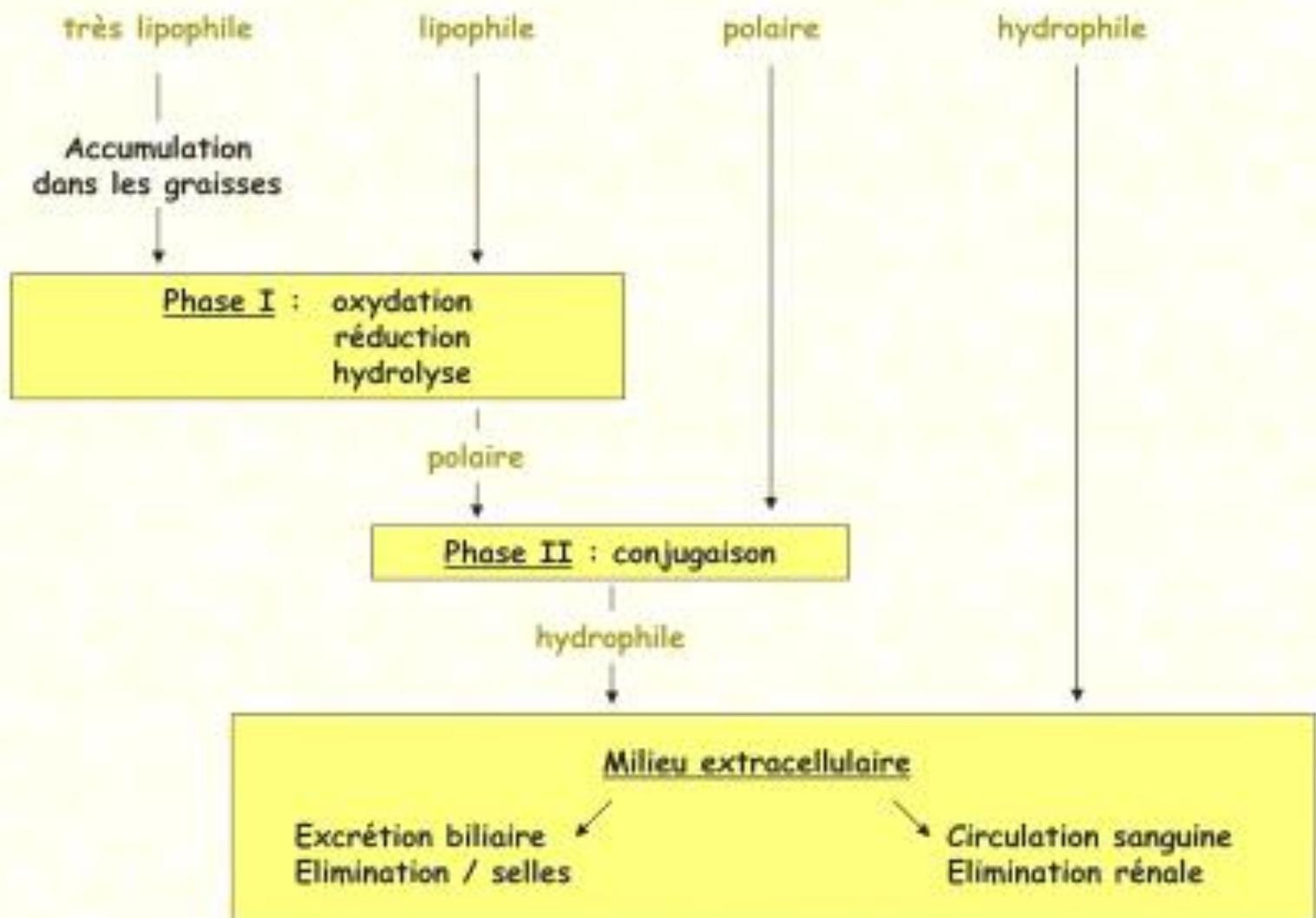
Les xénobiotiques, oxydés puis conjugués, sont hydrosolubles et donc excrétables

Différentes étapes de la phase II

1. Glucuronoconjugaison
2. Sulfoconjugaison
3. N-acétyl conjugaison
4. Glutathion-conjugaison
5. Conj. aux acides aminés, méthyl-conjugaison



Selon xénobiotique :



Utilité des biomarqueurs comme outil d'évaluation de la qualité de l'environnement (Wolfe, 1992)

- ❑ Estimer la distribution de substances potentiellement toxiques à la fois dans l'environnement et dans les organismes vivants,
- ❑ Mettre en évidence des réponses des organismes à l'exposition à des contaminants,
- ❑ Etablir des relations de cause à effet entre la présence des contaminants et les réponses biologiques,
- ❑ Evaluer les conséquences de la contamination des individus sur des niveaux d'organisation biologiques plus élevés (populations, communautés), et finalement sur l'écosystème...

Biomarqueurs non spécifiques et spécifiques

Biomarqueurs non spécifique

Ce sont **des indices de stress** qui donnent une **évaluation globale de l'état de santé des organismes** sans indiquer le type de contaminant présent dans le milieu marin. Les protocoles de mesure de ces indicateurs sont généralement faciles à mettre en pratique, ne requièrent pas d'équipements sophistiqués et s'avèrent très peu onéreux.

Exemple de quatre biomarqueurs non-spécifiques :

- les deux premiers (stress on stress et scope for growth) opérant à l'échelle de l'organisme entier,
- les deux suivants (évaluation de la stabilité des membranes lysosomales et de la peroxydation lipidique) intervenant à l'échelle cellulaire.

Parmi les biomarqueurs non-spécifiques, citons les tests :

- 1) Stress on stress (Viarengo et coll., 1995),
- 2) Scope for growth (Widdows et coll., 1995),
- 3) Stabilité des membranes lysosomales (Alberts et coll., 1986), (Regoli, 1992),
- 4) Peroxydation lipidique (Ribera, 1990).

Exemple de biomarqueur non spécifique : péroxydation lipidique

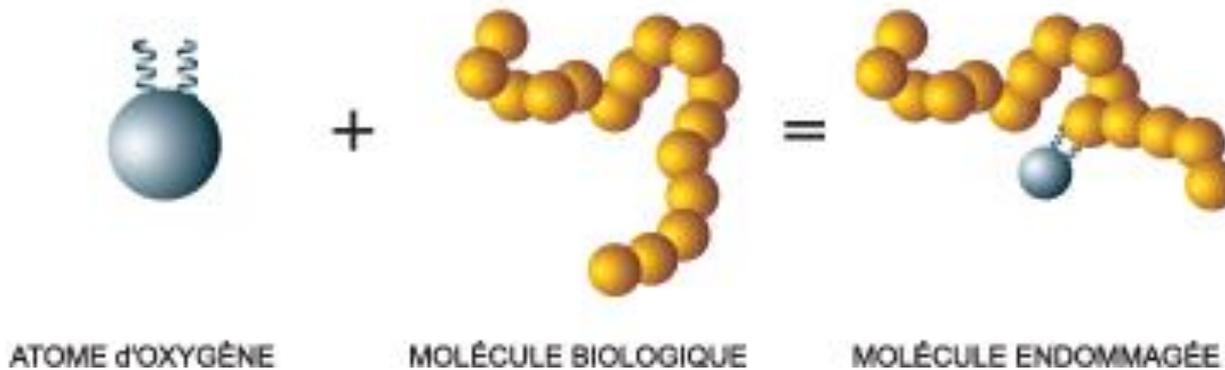
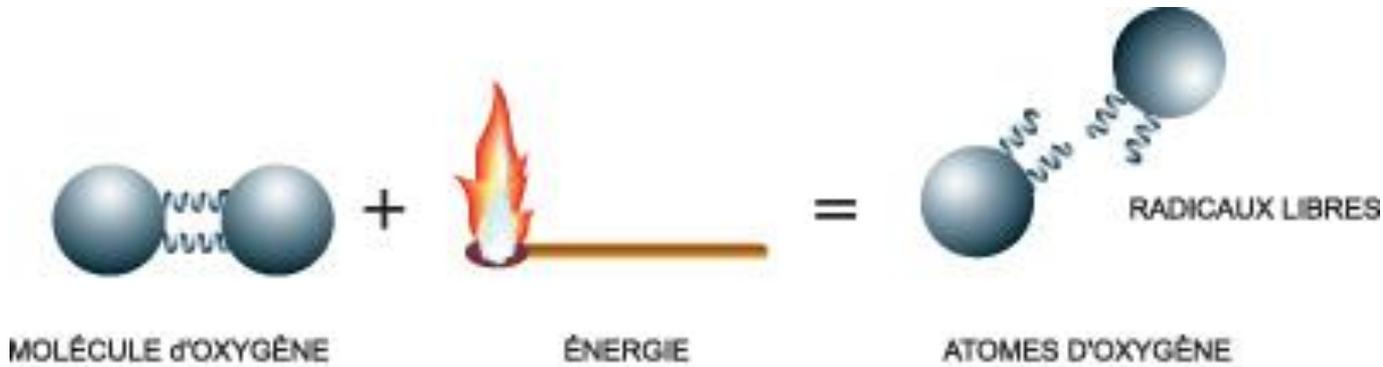
Lorsque des molécules réactives contiennent un ou plusieurs électrons non appariés, on assiste à la **formation de composés instables**, capables de générer d'importants dommages tissulaires et membranaires dans l'organisme : **les radicaux libres** qui peuvent avoir une origine exogène, par **l'action de certains polluants organiques et métalliques** par exemple, sur des composants cellulaires (Ribera, 1990).

La production de radicaux libres dans une cellule entraîne différentes conséquences cytotoxiques, dont l'inactivation des systèmes enzymatiques, la dégradation des protéines, l'altération de l'ADN et surtout la détérioration de la membrane cellulaire par attaque de ses acides gras constitutifs, ce qui se traduit par des phénomènes **de peroxydation lipidique** .

- Le processus de peroxydation lipidique.

La méthode d'évaluation de ce phénomène consiste alors à doser un des produits finaux de dégradation des AG, le **malonedialdehyde (MDA)**, dont la teneur est en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire et, d'une manière générale, avec le stress oxydant subi par les cellules de l'organisme ;

La peroxydation lipidique peut également être estimée par la mesure de l'activité des défenses antiradicalaires, qu'elles soient enzymatiques (catalase, superoxyde dismutase) ou non (glutathion, vitamines A, E et C).



L'oxygène singulet (1 O₂) est une forme très énergétique et mutagène de l'oxygène qui peut provenir du transfert d'énergie de la lumière, du métabolisme respiratoire des neutrophiles, ou de la peroxydation des graisses.

Biomarqueurs spécifiques récents

- Mise en évidence chez les êtres vivants de systèmes - la plupart enzymatique - spécialisés dans des fonctions de détoxification de l'organisme.
- dispositifs de défense dont l'activité est rapidement induite par la présence d'un substrat particulier ou de composés possédant une conformation voisine.
- informent sur la nature du toxique qui les a induits, directement liée à l'état de stress observé chez l'individu.

Plusieurs systèmes :

- **les activités éthoxyresorufine O-dééthylase (EROD) ;**
- **glutathion S-transférases (GST)** pour ce qui est des dispositifs enzymatiques de détoxification;
- **concentration des métallothioneines (MT)**, protéines non enzymatiques impliquées dans la régulation des métaux circulant dans l'organisme ;
- **activité acétylcholinestérasique (AChE)**, qui n'entre pas dans le cadre de fonctions de détoxification, mais qui constitue la cible privilégiée de nombreux contaminants neurotoxiques et dont l'inhibition constitue un excellent marqueur d'exposition aux polluants.

Plus largement **d'autres biomarqueurs spécifiques** et les contaminants qui leur sont associés :

CONTAMINANTS	BIOMARQUEURS
HAP : composés plans (type 3MC) PCB : composés coplanaires	MFO Cyt.P450 dép. EROD, BaPMO AHH, ECOD
HAP : composés globulaires (type PB)	MFO Cyt.P450 dép. PROD
HAP et PCB : composés globulaires	Enzymes Phase II EH, GST
Métaux	MT
Pesticides	MFO : LH
Organophosphorés Carbamates	AchE

Contaminants et biomarqueurs d'exposition
 (source Docteur Romeo - Faculté de médecine de Montpellier/Université de Corse)

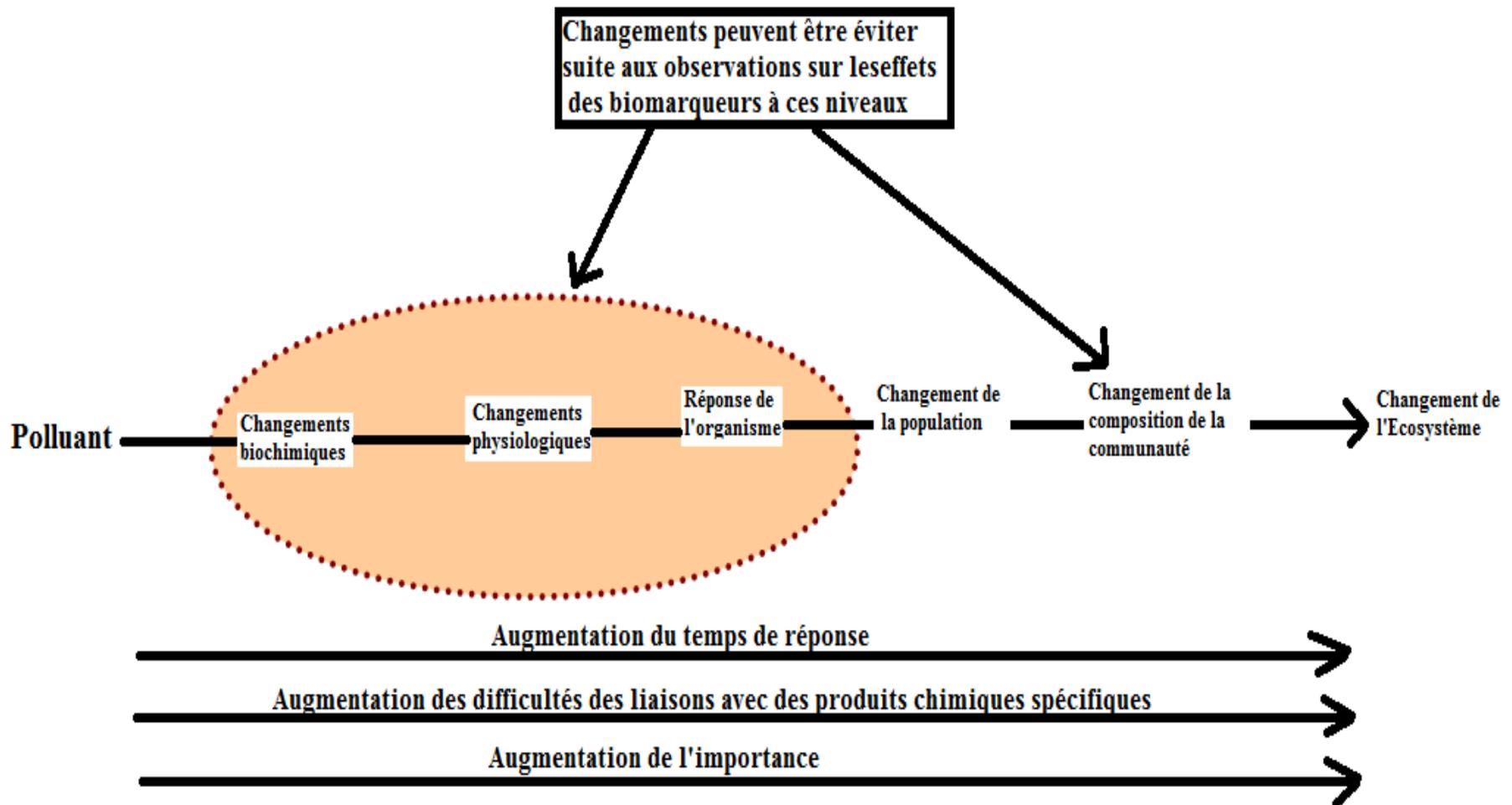
Les limites des biomarqueurs

- Les traitements des échantillons
- La référence
- Les facteurs génétiques (MXR - Multi-Xenobiotic-Resistance)
- Les facteurs physiologiques (âge, sexe, facteurs nutritionnels, saisons).
- Les pollutions mixtes et les interactions avec d'autres polluants.
- La durée des effets biologiques

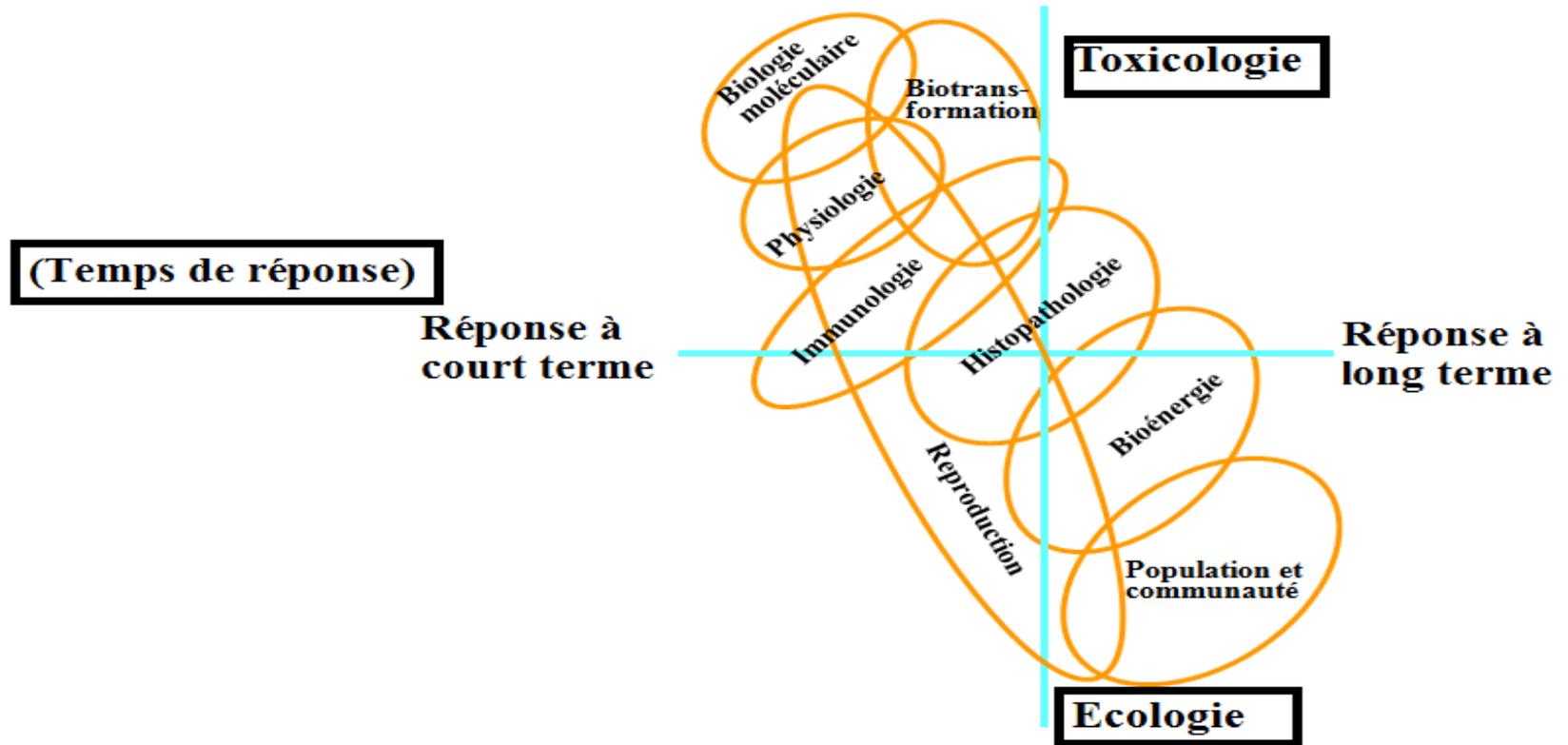


Difficulté à vérifier les sources de variations

Dans un 1^{er} temps: Etudes réalisées à l'échelle biomoléculaire, biochimique et physiologique puis on passe au niveau de l'individu :

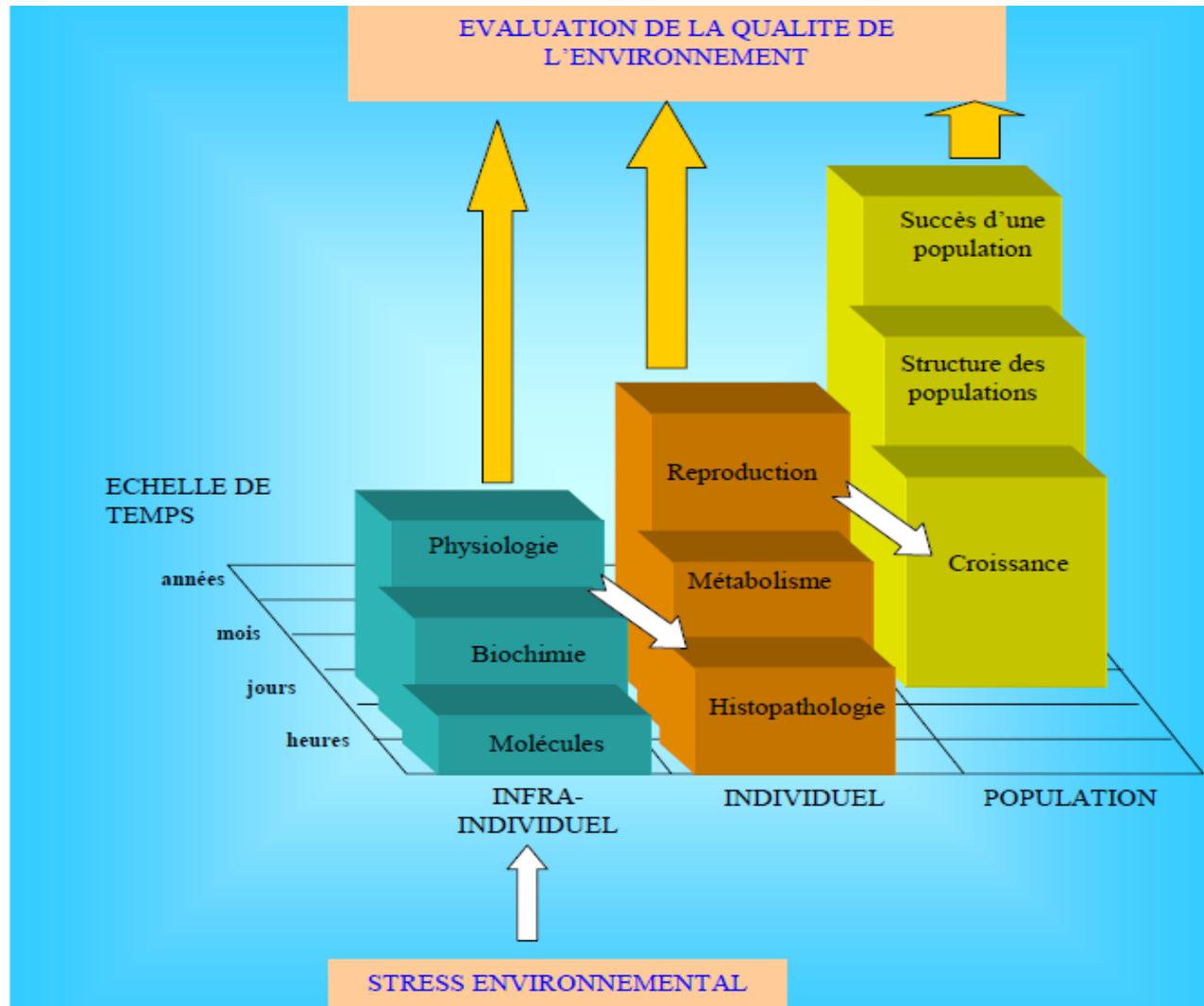


Dans un deuxième temps: on passe du niveau infra-populationnel, au niveau de la population, et de la communauté.



L'emploi d'indicateurs écologiques permet une bonne évaluation des effets à long terme sur les populations et / ou les communautés, et les marqueurs biochimiques et moléculaires sont les plus efficaces pour donner une réponse précoce à un stress.

D'où l'intérêt de la mise en place de grilles de qualité, utilisant une collection de bioindicateurs, repose sur la nécessité de prendre en compte des effets de la contamination sur l'environnement à court, moyen et long terme, et de définir les liens existant entre effets toxicologiques et écologiques.



Concept d'une stratégie idéale de biosurveillance : le biomonitoring

C'est l'utilisation d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes (biosenseurs) à tous les niveaux d'organisation biologique moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique et écologique afin de prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution.

Garrec & Van Haluwyn, 2002

Il s'agit d'une observation chimique ou biologique pour des motifs connus et selon une localisation spatiale prévue à l'avance et répétée en des moments prédéfinis, en utilisant des méthodes comparables ou standardisées.

Le monitoring a diverses fonctions :

une fonction de contrôle.

Il est entrepris pour s'assurer que des standards déjà formulés sont respectés (contrôle de l'efficacité de mesures de réduction des risques).

une fonction de signal.

Il sonne l'alarme en détectant des modifications soudaines néfastes pour l'environnement ou pour la santé humaine. Idéalement son protocole devrait être conçu de manière à ce que les causes puissent immédiatement être identifiées.

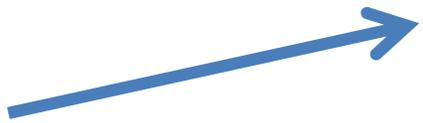
une fonction de tendance.

Il permet de reconnaître des tendances. L'analyse des variations temporelles observées aide à la prédiction des développements futurs.

une fonction d'instrument :

Il participe à l'identification et à la clarification des processus sous-jacents, permet de mieux connaître un mécanisme d'action des pollutions.

**B
I
O
S
U
R
V
E
I
L
L
A
N
C
E**



Biomarqueurs

- Effet invisible
 - Infra individuel
 - Échelle microscopique
- Ex : méthallothionéines*



Bioindicateurs

- Effet visible
 - Individuel
 - Échelle 1/1
- Ex : visualisation de nécroses*



**Bioaccumulateurs
biotraceurs**

- Effet invisible
 - Individuel
 - Chimie et biochimie (dosage)
- Ex : accumulation d'un élément trace dans une mousse*



Biointégrateurs

- Effet visible
 - Population, communauté, d'espèces
 - Écosystème, éco-complexe
 - Échelle globale
- Ex : disparition ou apparition d'espèces indicatrices*

Bioindicateurs et biomarqueurs

Algues

Diatomées,
Chrysophycées

Moules,

• Moules d'eau douce:
Pyganodon, Elliptio,

Insectes

• Larves d'insectes :
Hexagenia, Chaoborus

Crustacés,

• Amphipodes:
Hyaella azteca

Vers

Oligochètes:
Limnodrilus sp.

Poissons

Perchaude,
Brochet

Biomarqueurs biochimiques

charge énergétique: ATP, ADP, AMP
Enzymes (glutathion, malondialdehyde)
Métallothionéine

Biomarqueurs physiologiques

Taux de respiration
Facteur de condition

Difformités morphologiques

Diptères (Chironomidés)

Tumeurs labiales

Poissons benthiques

L'utilisation de réponses biologiques précoces en écotoxicologie est basée sur l'hypothèse que le temps de réponse biologique augmente avec le niveau d'organisation biologique.

On postule ainsi que:

des changements dans l'expression des gènes pourront conduire à des changements dans les processus cellulaires, puis se traduire au niveau de l'organisme et peut-être ensuite de la population.

Avec l'avènement de la génomique, il devient possible d'étudier l'expression de tous les gènes d'un organisme.

Ainsi, la toxicogénomique est une approche qui a été étudiée sur une dizaine d'espèces aquatiques, de la daphnie aux poissons marins.

Ex: le génome du médaka (*Oryzias latipes*) et du poisson zèbre (*Danio rerio*) a été étudié pour rechercher des changements dans l'expression des gènes provoqués par des stress environnementaux (hypoxie, xénobiotiques*).

La génomique des bivalves, en revanche, n'était qu'à ses débuts. Compte tenu du peu d'informations sur les gènes des moules marines, (*Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*), la mise en œuvre de l'analyse est plus lourde (Venier *et al.*, 2006). Les premiers résultats de toxicogénomique sont très prometteurs chez les organismes modèles (médaka, danio, daphnie).

Ils montrent les résultats suivants:

1. une réponse rapide dans l'expression des gènes et à des concentrations beaucoup plus faibles que celles utilisées habituellement avec les marqueurs standards (survie et anomalie du développement) chez les embryons de danio (Voelker *et al.*, 2007), et surtout

2. confirment l'hypothèse que ces changements précoces sont reliés à des effets sur les organismes.

En exposant des larves de danio à des effluents de production pétrolière, Holht *et al.* (2008) montrent des changements dans l'expression des gènes et surtout des effets nocifs au niveau populationnel sur les générations Fo et F1 à priori d'une cible subcellulaire.

Les éco-indicateurs peuvent être mesurés au niveau de:

- l'individu,
- la population ou
- la communauté.

Les caractéristiques évaluées chez **l'individu** sont :

- **sa condition,**
- **son développement,**
- **sa reproduction,**
- **sa mortalité ainsi que**
- **son comportement .**

En effet, si la reproduction de l'individu est affectée, toute sa population est susceptible de subir des dommages

Quant **aux populations**, les propriétés pouvant faire l'objet d'évaluation sont:

- l'abondance,
- la biomasse,
- la productivité,
- la reproduction,
- la mortalité,
- la structure d'âge,
- la proportion des sexes et
- la diversité génétique ainsi que
- l'étendue géographique .

L'évaluation des communautés se situe davantage au niveau de la dynamique des populations. Les paramètres couramment étudiés sont :

- la biomasse,
- la productivité,
- la diversité,
- la dominance et
- la composition .

Concepts en biosurveillance

Biointégration :

Niveau population, communautés d'espèces.
Modification de la présence et de l'abondance d'une espèce qui indique toute modification de l'environnement de cette espèce.

Bioindication :

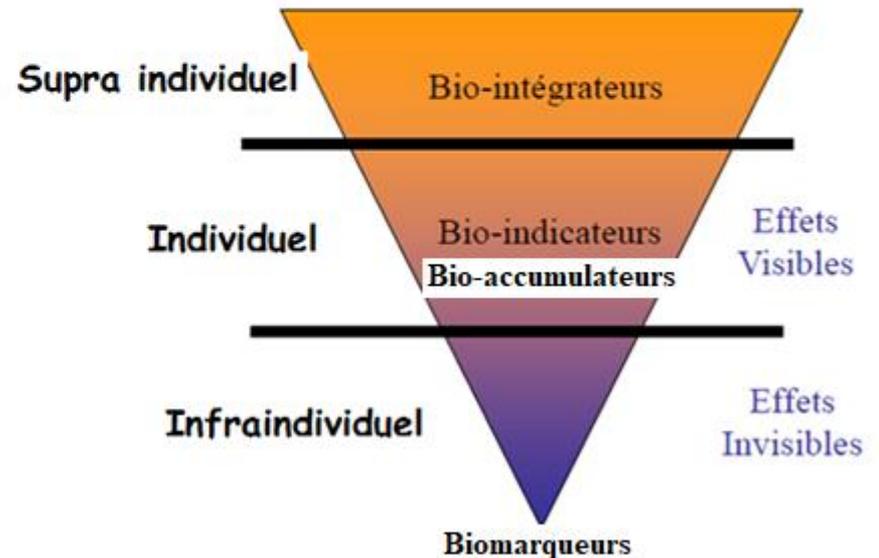
Niveau individuel. Effets visibles de la pollution atmosphérique.
Altération tissulaire, morphologiques, physiologiques.

Biomarqueurs :

Changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique qui relève de l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins un polluant.

Bioaccumulation :

Mesure de l'imprégnation d'organismes modèles par les polluants recherchés.



Phases de la perturbation d'un milieu

Phase 1: Détection précoce d'une perturbation

Cette phase doit impliquer les techniques les plus économiques et les plus globales possible.

- L'observation dans le milieu d'espèces particulièrement indicatrices d'une perturbation peut permettre de signaler un problème environnemental.
- Des tests de toxicité sub-létale ou des marqueurs non spécifiques (génotoxicité, cytotoxicité, protéines de stress, marqueurs de maladie) peuvent donner des signaux d'alarme plus précoces.

Phase 2 : Identification de la nature de la contamination

Cette phase peut impliquer deux types d'approches complémentaires :

- Des dosages de contaminants dans la matière vivante, relativement coûteux mais permettant d'identifier de façon très précise la composition d'un complexe de contaminants ;
- Des recherches de marqueurs spécifiques, moins onéreux, mais moins précis que les dosages chimiques, qui toutefois permettent aussi de mesurer les effets des contaminants sur les organismes.

Phase 3 : Suivi à long terme de la qualité du milieu marin.

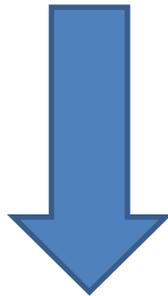
Cette phase fait appel à des mesures périodiques d'un certain nombre de paramètres qui peuvent être:

⇒ écologiques: réseau posidonie, suivi des peuplements benthiques

⇒ chimiques ou biochimiques.

l'intérêt de ces études

- améliorer la qualité des eaux
- protéger les écosystèmes aquatiques
- assurer l'élimination de substances dangereuses prioritaires
- etc. ...



Objectifs à atteindre:

- Bon état écologique
- Non détérioration des milieux
- Un effort sur les substances dites « prioritaires »
- Mise en place de zones protégées

La biosurveillance est donc un outil important qui permet d'évaluer le degré d'exposition aux substances chimiques présentes dans l'environnement.

La biosurveillance permet :

- d'améliorer la surveillance sanitaire d'expositions environnementales de la population ;
- de comparer l'exposition de différentes populations ;
- d'établir des valeurs de référence pour les niveaux d'imprégnation
- de fournir un signal d'alerte précoce ;
- d'identifier et décrire l'imprégnation de populations à risque, fortement imprégnées ou particulièrement sensibles ;
- d'identifier et suivre les variations géographiques et temporelles des imprégnations ;
- d'améliorer la connaissance du lien entre les expositions environnementales et les effets sanitaires ;
- d'évaluer ou orienter les actions de gestion.

Bilan étude écotoxicologique :
définir une concentration sans effet néfaste pour
l'écosystème.

- recherche des données et/ou expérimentation
- analyse critique des données information
- synthèse des informations
- définir, calculer (avec des facteurs de sécurité)
- la PNEC : predicted no effect concentration

En parallèle, déterminer la contamination de l'écosystème

- déterminer les concentration dans les différents compartiments de l'écosystème (biotope et biocénose)

- conditions d'utilisation, mobilité du polluant (dilution, transfert dans différents compartiments, rémanence ou dégradation, ...)

souvent nécessité de définir des scénarios, hypothèses pour simplifier le problème.

L'évaluation du risque d'une substance fait intervenir deux paramètres :

- ❑ la probabilité d'exposition à la substance (exposition) et
- ❑ la gravité des effets potentiels résultants de cette exposition (concentration-effets)

Cette méthode est basée sur la comparaison entre la **PNEC (Predicted No Effect Concentration)** et la **PEC (Predicted Environmental Concentration)** (EC., 2003).

Caractérisation du risque

PEC (évaluation des expositions)

PNEC (évaluation du danger)

Le risque est caractérisé par la confrontation des valeurs d'exposition des écosystèmes aux substances

Valeurs estimées ou mesurées

avec les valeurs d'effets de ces substances sur les organismes des écosystèmes étudiés

aquatiques benthiques ou terrestres

La PNEC, dérivée à partir des CE50 et NOEC disponibles, est la concentration en dessous de laquelle il est improbable d'observer des effets à long terme sur l'environnement.

Elle est obtenue par l'application d'un facteur de sécurité (10-1000) sur les plus faibles valeurs de toxicité disponible.

La magnitude du facteur de sécurité dépend généralement du type de test (aigu, chronique, *in situ*) et du nombre de données disponibles.

La PEC est la concentration possible d'être trouvée dans l'environnement.

Elle est déterminée à partir du comportement de la substance dans l'environnement, de son tonnage, son utilisation, son poids moléculaire, sa solubilité et sa volatilité pour les substances nouvelles ou à partir des concentrations mesurées dans le milieu pour les substances existantes.

La méthode de l'EPA (Stephan et al. 1985), pour estimer le danger pour l'environnement est basée sur le calcul de la **FCV (Final Chronic Value)**.

Cette valeur est calculée à partir **des données des NOEC chroniques de 8 familles d'organismes** au moins .

La moyenne géométrique des NOEC de chaque genre est calculée et les **4 NOEC les plus faibles sont utilisés pour le calcul de la FCV**.

Dans le cas où les données chroniques sont rares ($n < 6$) et le nombre de données relatives à la toxicité aiguë est supérieur, on calcule un **ACR (Acute Chronic Ratio)** pour chacune des espèces.

L'ACR est le ratio entre la valeur de la toxicité aiguë et chronique. Après, un ACR moyen à partir des différents ACR obtenus est calculé par une approche géométrique.

$$\text{Ainsi la FCV} = \frac{\text{FAV (Final Acute Value)}}{\text{ACR moyen.}}$$

Risque : estimation qualitative et/ou quantitative compte tenu des incertitudes inhérentes à l'évaluation, de la probabilité de la fréquence et de la gravité des effets indésirables connus ou potentiels.

Quotient de risque (risk quotient) = RQ

RQ < 1 : pas d'effet néfaste prévu

RQ = 1 : des effets néfastes pourraient survenir (affiner l'évaluation, réduire l'usage, ne pas utiliser le produit)

$$RQ = \frac{PEC}{PNEC}$$

RQ > 1 : des effets néfastes probables (ne pas utiliser le produit, réduire l'usage)

Evaluation peut-être locale, régionale ou nationale :

- PEC locale, régionale ou nationale : dimension de la contamination, des déplacements de contaminants et donc de l'exposition.

Evaluation aiguë ou chronique :

- en fonction des données toxicologiques : tests aigus ou chroniques (PNEC)

Avantages et limites des outils

- ❑ Biomarqueurs : explicatifs du mode d'action, alarme précoce, rapidité, spécificité.
- ❑ Bioessais : faiblement représentatifs de l'écosystème, mise en œuvre aisée, reproductibles
- ❑ Mésocosmes : à l'interface entre le laboratoire et le terrain, permettent de coupler les études.
- ❑ Bio indicateurs : bonne représentativité écologique, non explicatifs, réponse lente.

d' où la complémentarité des approches

Préoccupation actuelle et évolutions

On assiste au recours possible à de nouveaux moyens d'étude:

- ❑ **Relation (quantitative) structure activité (Q)SAR**

- * Relations mathématiques permettant d'évaluer des propriétés à partir de la structure de la substance ou d'autres propriétés. Pour collecter informations toxicologiques et écotoxicologiques.

- ❑ **Méthodes *in vitro***

- * Méthodes reposant sur l'utilisation de cultures cellulaires ou de fractions subcellulaires.

- ❑ **Read across**

- * Méthode par analogie permettant de prévoir les propriétés d'une substance à partir de celles de substances proches

❑ Méthodes « omiques »

* Pour expliciter les mécanismes d'action

❑ Développement de tests de screening

* sur les mélanges (ex. programme Cotox de l'ADEME)

❑ Modèles PBPK

* Une meilleure appréhension de la phase toxicocinétique

❑ Intégration des informations : les Adverse Outcome Pathways (AOP)

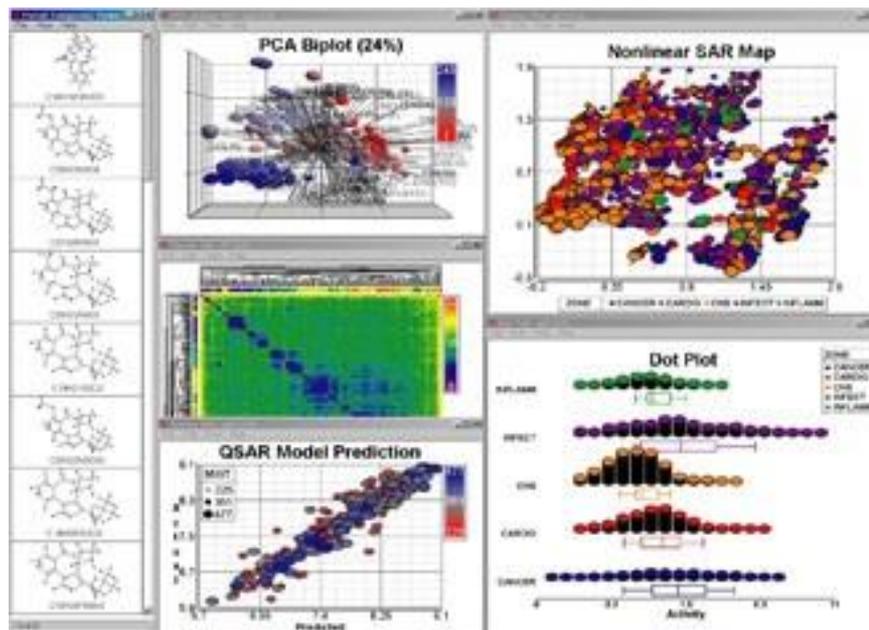
* Cadre conceptuel qui assemble les connaissances sur le lien entre un événement moléculaire initiateur et un effet négatif à un niveau pertinent pour l'évaluation du risque.

Modélisation

Il existe des méthodes permettant de prédire l'effet ou le comportement d'une molécule sans expérimentations : il s'agit des modèles. Ces modèles ont l'avantage d'économiser du matériel vivant (pas d'animaux ou de végétaux nécessaires), du temps et de l'argent.

Ex. de modèle:

QSAR (Quantitative structure-activity relationship) permettant de prédire l'effet ou le comportement d'une molécule d'après sa structure chimique (partek.com, 2011).



Certains modèles permettent de prédire l'effet, sur un organisme, d'un mélange de molécules en connaissant l'effet de chacune des molécules qui composent ce mélange. Cas du modèle de prédiction "addition des concentrations" : l'étude de [Silva](#) a permis de tester l'effet de 8 perturbateurs endocriniens par un test particulier (le test YES).

Les résultats montrent que l'effet de chacun des composés pris séparément est pratiquement nul ("barres" 1 à 8).

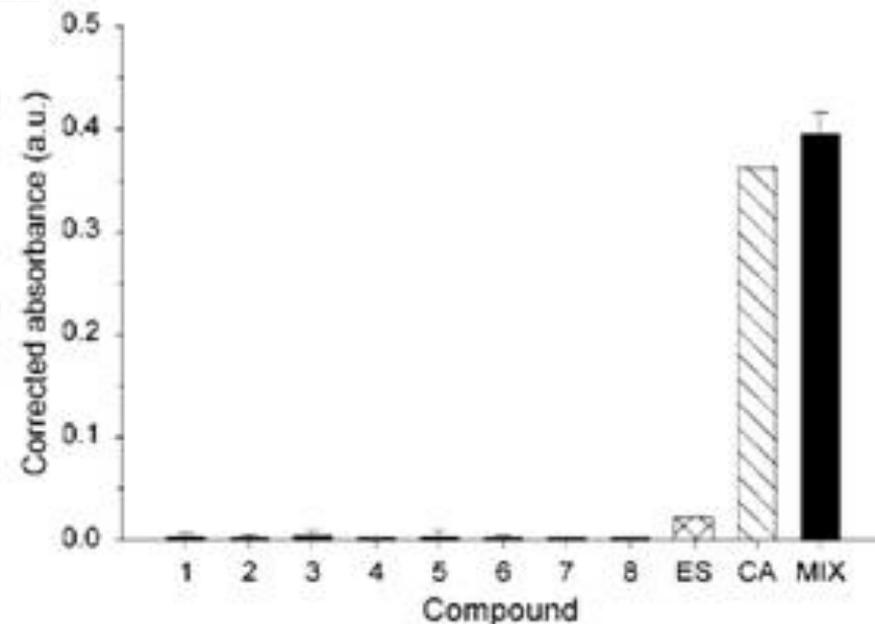
Si on fait, par calcul, la somme de ces effets on arrive à un effet, là encore, très faible (barre "ES").

En revanche, on voit que si on mélange ces composés, l'effet de l'ensemble est beaucoup plus fort (barre "mix").

En mélange, on a donc parfois un effet "1+1=3".

Or, dans cette étude, Silva a appliqué le modèle de prédiction "addition des concentrations" : la prédiction de l'effet du mélange de molécules est représentée par la "barre" CA.

On voit ainsi que la prédiction issue du modèle est proche de l'effet réel du mélange.



L'effet d'un mélange de 8 perturbateurs endocriniens peut être prédit par le modèle "addition des concentrations" ([Silva, 2002](#))

1 à 8 : effets des composés testés individuellement

ES : somme arithmétique des effets individuels mesurés des 8 composés

CA : modèle de prédiction " addition des concentrations "

MIX : effet mesuré des composés testés en mélange

Ces modèles peuvent donc être utiles pour donner une idée de l'effet ou du comportement d'une ou plusieurs molécules.

Cependant, ils restent encore assez approximatifs dans leur prédiction et ne permettent pas, pour l'instant, de s'affranchir d'expérimentations classiques.

☐ **Toxicité et écotoxicité d'un mélange suit généralement un modèle d'additivité des concentrations/doses ou des réponses (y compris lorsque les substances sont présentes à très faibles doses (inférieures à leurs NOAEL/NOEC))**

☐

Mais : Limites et incertitudes à ces modèles (sur les modes d'action, le nombre de substances constitutives, les ratios de doses, les délais et fréquences d'expositions ...)

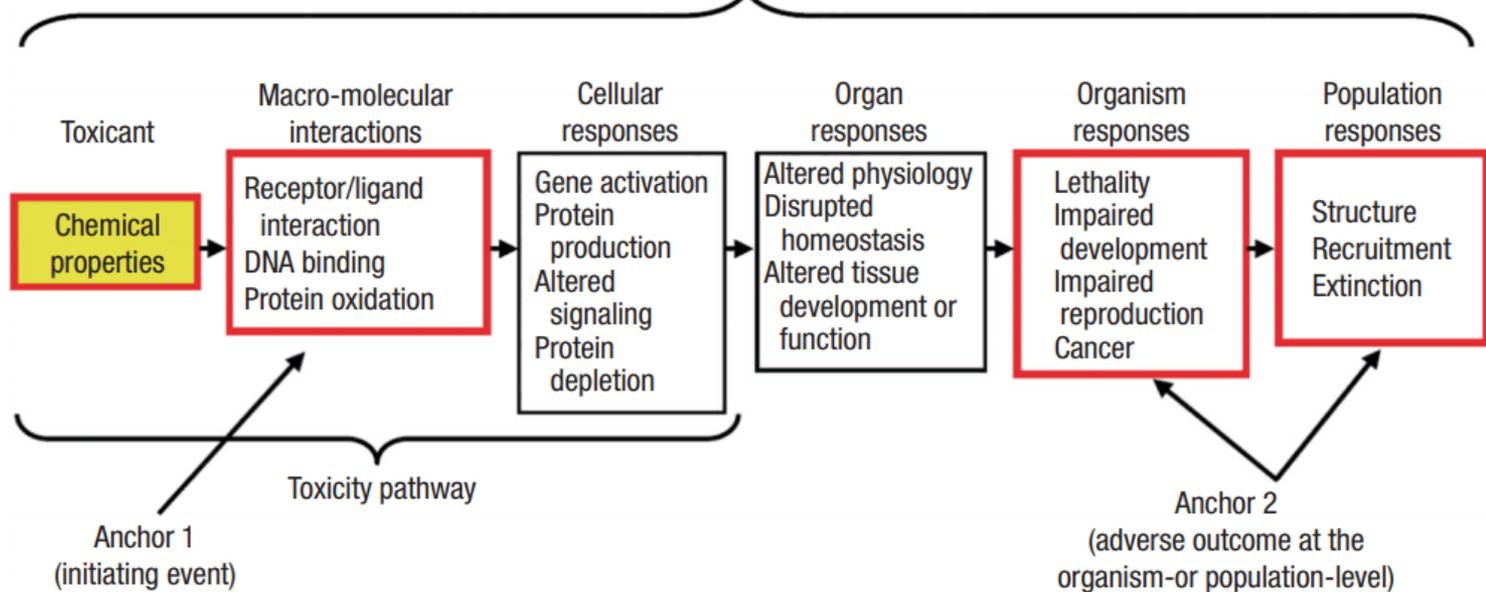
☐

Méthode à privilégier: méthodes du mélange d'intérêt pour s'affranchir des possibles interactions supra- ou infra-additives.

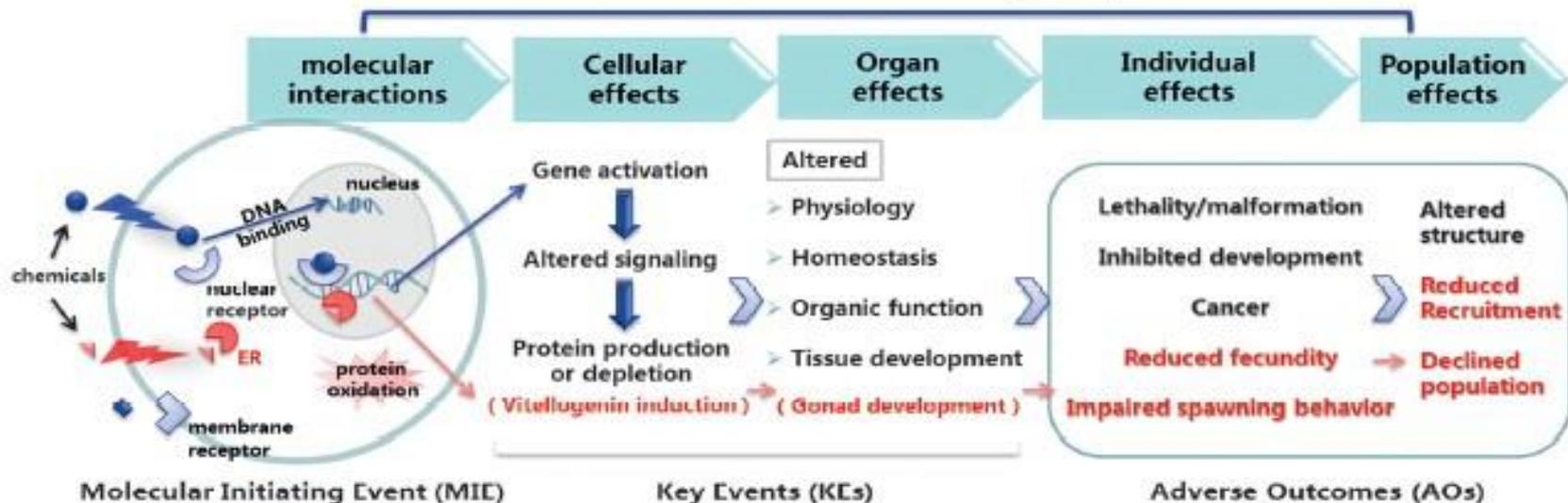
☐

En absence de données sur le mélange: HI pour les risques sanitaires et PEC/PNEC pour les risques écologiques.

Intégration des informations : Principe des Adverse Outcome Pathways (AOP)



Adverse Outcome Pathway (AOP)



**Séquence chronologique
des évènements biologiques affectant les
organismes exposés aux polluants de
l'environnement**

**Présence et effets
à différents niveaux
d'organisation biologique**

