La biosurveillance de l'environnement

Eric Vindimian

▶ **To cite this version:**

Eric Vindimian. La biosurveillance de l'environnement. 9. Congrès International de Métrologie, Oct 1999, Bordeaux, France. pp.655-658. ineris-00972179

HAL Id: ineris-00972179
https://ineris.hal.science/ineris-00972179

Submitted on 3 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LA BIOSURVEILLANCE DE L'ENVIRONNEMENT

Éric VINDIMIAN
Directeur des risques chroniques
INERIS,
BP2. 60550 VERNEUIL EN HALATTE.
☎ 44 55 68 27. T 44 55 66 55
Email : Eric.Vindimian@ineris.fr

Résumé

Lorsque l'on cherche à protéger les écosystèmes contre des agressions extérieures qui perturbent leurs mécanismes biologiques, l'idée la plus simple est de chercher au sein des organismes vivants les témoins de ces perturbations. La notion de bio-surveillance vient de là. Cela est particulièrement vrai en ce qui concerne les rejets de produits chimiques dans l'environnement. Les analystes peuvent détecter des traces de produits chimiques dans des matrices très complexes mais ne peuvent être exhaustives. Les chercheurs ont donc développé depuis de nombreuses années des méthodes de biosurveillance tant au laboratoire que sur le terrain.

Abstract

The most simple idea concerning ecosystems protection against external perturbations is to measure directly the effects on living organisms. Biomonitoring originates from that idea. This is particularly true for chemical inputs in the environment. chemical analysis cannot be comprehensive in that respect. Biomonitoring methods have been developed at the laboratory and in the field to achieve ecosystems protection.

Introduction

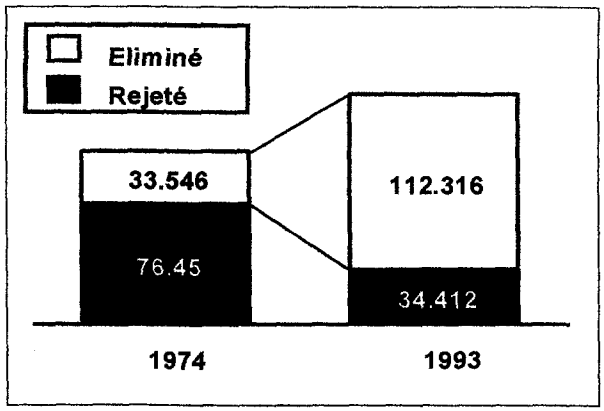
La façon la plus simple de présenter les outils de la biosurveillance est de les classifier en bioessais et bio-indicateurs. Les premiers sont des méthodes de laboratoire essentiellement basées sur l'utilisation d'organismes vivants modèles en conditions contrôlées. Les bio-indicateurs font appel à l'analyse de la situation des organismes peuplant les écosystèmes.

Les bio-essais

Ce sont des méthodes de laboratoire, souvent normalisées, qui permettent de mesurer des concentrations significativement nocives pour des organismes vivants que l'on sait élever ou maintenir hors de leur biotope. On distingue couramment les bio-essais chroniques et les bio-essais aigus pour des questions de durée.

- Exemple : essai de toxicité sur Daphnia magna normalisé au niveau international.

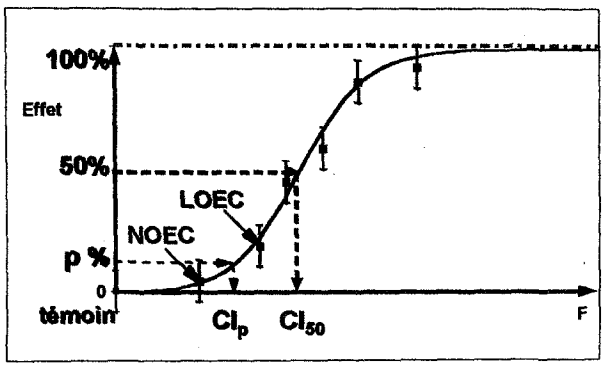
Les bio-essais sont bien connus des agences de l'Eau qui pratiquent notamment les essais sur *Daphnia magna* afin de caractériser la toxicité des rejets. Le figure ci-dessous montre l'évolution de la toxicité des effluents mesurée par l'essai sur *Daphnia magna*.



En Amérique du nord la biosurveillance des effluents et du milieu fait appel à des essais de toxicité chronique essentiellement sur des algues unicellulaires et des daphnies (*Ceriodaphnia dubia*) [1]. Il s'y ajoute des essais sur des phases embryo-larvaires de poisson (Fathead minnow). En Europe ces essais sont également développés mais leur application est encore embryonnaire. En France les agences de l'Eau ont étudié la faisabilité de ce type de contrôle par des essais chroniques et réfléchissent maintenant aux modalités d'application sous la forme d'un indice de toxicité [2].

La plupart des essais de toxicité aiguë sont normalisés par l'ISO et le CEN. Des travaux sont en cours pour certains essais chroniques.

Les bioessais se caractérisent par l'établissement d'une courbe concentration-réponse illustrée par le graphe suivant.



Sur ce graphe on montre les diverses façon d'interpréter une courbe concentration-réponse. NOEC et LOEC sont des valeurs obtenues par des considérations statistiques sur les lots d'essais, les valeurs dépendent des choix des concentrations expérimentales.

NOEC : No Observed Effect Concentration = concentration maximale observée sans effet

LOEC : Lowest Observed Effect Concentration = concentration minimale observée avec effet significatif

En outre la dispersion des résultats autour de la moyenne dépend du nombre de réplicats ce qui conduit ces valeurs à dépendre fortement du nombre d'essais réalisés aux concentrations NOEC et LOEC. En revanche la courbe de toxicité est stable avec la répétition, c'est la précision des paramètres de l'équation de la courbe qui augmente avec le nombre de répétitions. Il est donc préférable d'utiliser des valeurs issues de cette courbe comme les CIp p valant 1, 5, 10 ou 50%.

Bio-capteurs

Ils mesurent en temps réel des réactions biologiques dans le cadre de la surveillance des écosystèmes. Ils sont en général basés sur des systèmes vivants encagés dans le milieu naturel avec un capteur de paramètres physiologiques (nage, respiration, ouverture de valves). Des électrodes enzymatiques ou bien incluant des cellules vivantes couplées à des électrodes de pH ou d'oxygène ont été utilisées. Ces systèmes peuvent être couplés à des préleveurs déclenchés au passage des pollutions.

Les biocapteurs cherchent à pallier le manque de caractère intégrateur des bio-essais. En effet un bio-essai passe par un prélèvement d'eau ou d'effluent qui n'est représentatif que de l'instant, ou d'une période assez courte. Un capteur présent en permanence dans le milieu à surveiller devrait permettre de détecter toute présence d'un agent toxique au moment de son passage. Couplé à un préleveur d'échantillon le bio-capteur déclenchera une alarme et le gestionnaire du milieu aura toute la possibilité d'analyser des échantillons représentatifs de l'événement détecté.

0 - Quelques exemples d'alarmes sur le Rhin

Sur le tableau suivant on notera un certain nombre d'événements détectés par un capteur utilisant des poissons obligés de nager à contre-courant [3].

Date	Produits détectés	Concentration (µg/L)	CL50 (mg/L)
15/4/88	Isophorone	26	220
6/7/88	Isophorone	26	220
26/10/88	Tétrachloroéthane	10	37
	Tétrachloroéthène	0.2	5
	Fluoranthrène	0.4	4
	Pyrène	0.3	0.0026
	Paraoxon	1.3	-
6/2/89	Trioxane	2	-
	Fluoranthrène	0.5	-
	Pyrène	0.4	0.0026
	Alcoxyalcane	0.5	-
	Terpenoïde	0.5	-

Toute faiblesse des poissons est détectée et ces alarmes se révèlent bien plus sensibles que la concentration létale des produits détectés. On peut en conclure que la présence de nombreux toxiques est aggravante et que la létalité est un paramètre trop peu sensible pour être représentatif des impacts sur le milieu aquatique.

Les bio-indicateurs

Les bio-indicateurs sont des organismes vivants qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permettent de caractériser l'état d'un écosystème.

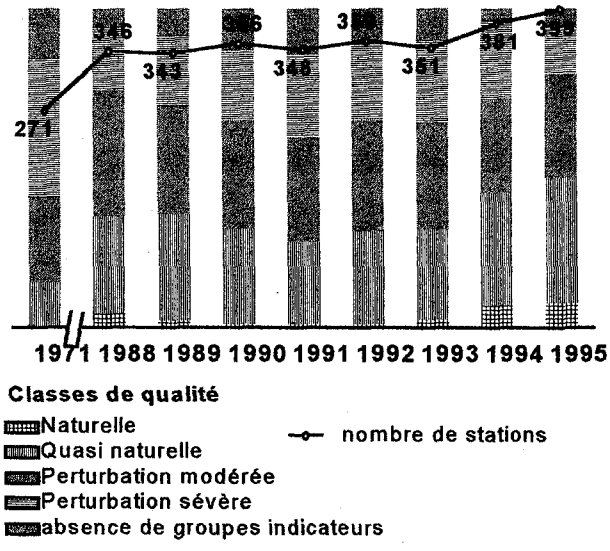
Selon Patrick BLANDIN [4] du muséum d'histoire naturelle tout organisme vivant peut être un bio-indicateur dès lors que la mesure que l'on effectue est significative de l'état de l'écosystème étudié. Le niveau de cette mesure est lui même très variable, du sub-cellulaire au supra-spécifique. On voit cependant que les bio-essais, qui utilisent des espèces vivantes sorties de leur milieu, ne sont pas concernés puisqu'il ne peuvent caractériser l'état d'un écosystème dont ils sont par définition absents.

1 - Les indicateurs écologiques

Ils font appel à la connaissance fine de la structure et du fonctionnement des écosystèmes. La comparaison de la composition floro-faunistique des stations étudiées à une référence permet de les classifier selon le degré de perturbation de leur qualité écologique.

L'IBGN est un indicateur écologique maintenant utilisé en routine. Il est normalisé par l'AFNOR. Au niveau international l'utilisation d'indicateurs écologiques fait l'objet de travaux de normalisation en cours. Chaque pays possède ses propres méthodes qui sont difficilement transposables même si elles sont très proches dans leur esprit.

L'IBGN devrait être retenu dans le cadre de la norme ISO/CEN comme un des exemples de méthodes biologiques de classification des rivières. Cette action de normalisation est fortement corrélée avec la mise en place parallèlement par l'union Européenne d'une directive sur la gestion globale de l'eau qui intègre la directive sur la qualité écologique des eaux qui était en cours d'élaboration. L'exemple ci-dessous illustre la mesure de la qualité écologique des eaux mesuré par un tel indice sur le bassin Seine-Normandie [5].



2 - Indicateurs biochimiques

Toute interaction d'un toxique avec un être vivant passe par une première étape moléculaire qui est l'interaction du toxique avec une cible biochimique parfois très spécifique. L'étude de cette cible peut donc donner des indications sur une étape précoce d'intoxication. Ces indicateurs sont donc des systèmes d'alarme précoce qui révèlent un problème potentiel dans l'écosystème étudié.

Le fait de s'intéresser à une phase précoce de l'intoxication est intéressant par son aspect prédictif. En revanche la pertinence écologique n'est pas claire. On ne sait pas

vraiment dire quel est le risque pour les organismes exposés aux toxiques dès lors que leur métabolisme a réagi. Le principe de précaution implique cependant de prendre en compte le phénomène qui démontre de toute évidence que les composés contaminant l'écosystème étudié ont interagi avec la biocénose.

Les indicateurs biochimiques sont bien souvent spécifiques des substances capables de provoquer leur réaction. Cela peut être considéré comme un inconvénient si l'on recherche un indicateur universel, simple système d'alarme. En revanche ces indications spécifiques sont très utiles pour connaître les causes d'intoxication ou bien pour cerner le type de pollution affectant un écosystème.

Exemples d'indicateurs biochimiques

- Mono-oxygénases à Cytochrome P450.
- Métallothionéïnes
- Protéines de stress
- Enzymes de conjugaison
- Marqueurs de stress oxydatif

Les mono-oxygénases à Cytochrome P450 sont les indicateurs biochimiques les plus utilisés. Un exemple de leur utilisation sera présenté plus loin.

Les métallothioneïnes sont des protéines qui fixent spécifiquement les métaux et dont la synthèse est induite par ces mêmes métaux. Elles peuvent ainsi mettre en évidence la présence de métaux sous une forme bio-disponible au sein des écosystèmes. Leur sensibilité n'est pas encore clairement établie et suscite encore des discussions.

Les protéines de stress réagissent à toutes sortes d'atteintes non spécifiques ce qui fait leur principal intérêt. Cependant la source de stress n'est pas forcément toxique et la signification pour les atteintes aux écosystèmes reste à prouver.

Les enzymes de conjugaison (encore appelées enzymes de phase II) interviennent en aval des mono-oxygénases (dites de phase I) dans les mécanismes de métabolisation des xénobiotiques, leur sensibilité et leur spécificité sont cependant plus faibles que celles des enzymes de phase I.

Les marqueurs de stress oxydatifs révèlent l'apparition d'une toxicité au niveau cellulaire. Il n'indiquent donc pas seulement la présence d'un contaminant bio-disponible mais un réel effet toxique.

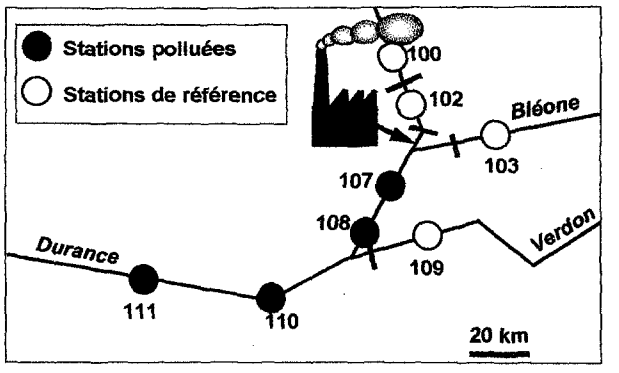
Mono-oxygénases à Cytochrome P450

Les systèmes enzymatiques à Cytochrome P450 sont induits par la présence de composés aromatiques plans comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB) et les dioxines et furanes. Ils sont présents chez tous les êtres vivants.

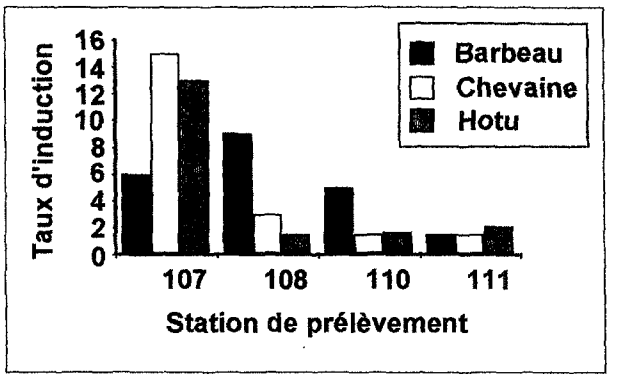
La mesure de l'induction peut se faire par la mesure d'activités enzymatiques spécifiques comme l'éthoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD), le dosage de la protéine par des anticorps ou le dosage des ARN messagers spécifiques.

L'induction de ces enzymes par un certain nombre de polluants fortement rémanents dans l'environnement est le mécanisme utilisé pour révéler la présence d'une pollution par ce type de composés. L'exemple ci-dessous illustre ce type de biosurveillance sur des stations polluées par un rejet industriel dans la Durance [6].

Exemple de la Durance



Induction EROD en aval du rejet



Ce graphe montre clairement l'induction des enzymes à Cytochrome P450 (activité Ethoxyrésorufine-O-dééthylase) en aval d'un rejet polluant industriel. Les activités ont pu être corrélées avec la présence de PCB dans les tissus des poissons à certaines époques de l'année à la station la plus proche du rejet. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les PCB dans les sédiments étaient indétectables. On note également la sensibilité différentielle des espèces avec un phénomène typique d'inhibition en aval proche pour une espèce benthique comme le barbeau.

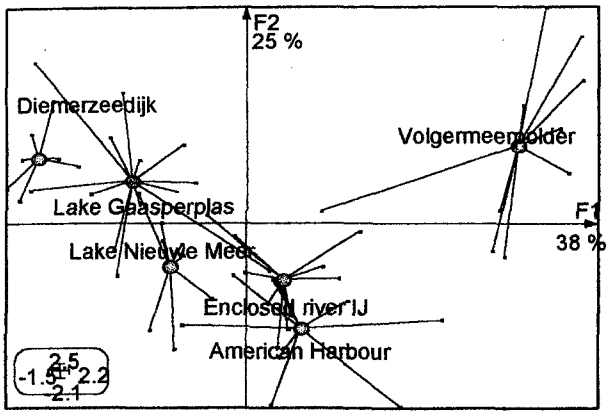
Ces résultats illustrent bien comment un système de bio-surveillance peut renseigner sur la présence de polluants bio-disponibles sur le profil en long d'une rivière.

Exemple de la ville d'Amsterdam

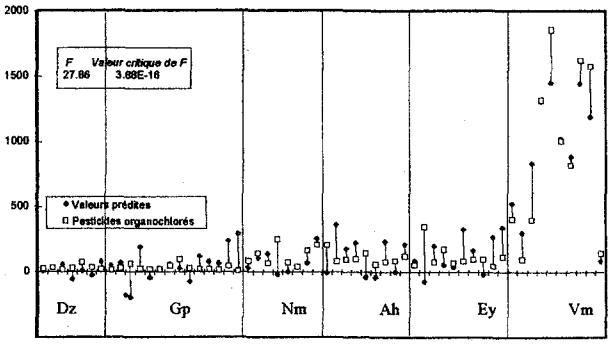
Cet exemple est tiré d'une étude en commun avec la municipalité d'Amsterdam [7]. Au sein de l'agglomération six pièces d'eau ont donné lieu à des prélèvements d'anguilles et de sédiments. De nombreuses analyses chimiques et des dosages de biomarqueurs ont été réalisés. Le traitement statistique qui va suivre illustre comment on peut déterminer des valeurs de paramètres chimiques par le dosage de biomarqueurs.

L'analyse discriminante ci-dessous permet de comparer des sites différant par leur contamination en fonction de la réponse de biomarqueurs. On voit sur la figure que 9 biomarqueurs permettent une séparation des six sites investigués alors même que des analyses sur des

contaminants des sédiments ou des poissons ne permettent pas une telle discrimination.



Prédiction des bioconcentrations en organochlorés à partir des biomarqueurs



L'utilisation des neuf biomarqueurs permet par régression de retrouver les concentrations en organochlorés de façon satisfaisante. Il ne s'agit que d'une corrélation mais cela illustre l'intérêt de ce type de mesure.

Conclusion

L'analyse des impacts toxiques dans les écosystèmes n'utilise pas toujours les méthodes les plus rationnelles. Bien souvent, pour des raisons de culture scientifique la biosurveillance est délaissée au profit de la métrologie classique par la chimie analytique.

L'association des bio-indicateurs, des essais biologiques, de l'analyse chimique et d'autres techniques, selon un schéma clair permet de définir une bio-surveillance pour un coût minimum.

L'enjeu le plus important est maintenant celui de la normalisation des méthodes biologiques afin de passer d'objets de recherche à des outils opérationnels. La directive cadre sur les eaux, en préparation au niveau de la commission européenne qui prévoit la détermination de la qualité écologique des eaux rend nécessaire cette approche et sa standardisation.

Références

[1] D.I.Mount, T.J.Norberg-King and A.E.Steen, Validity of effluent and ambient toxicity tests for predicting biological impact. EPA/600/8-86/005. 1986.

[2] E.Vindimian, J.Garric, P.Flammarion, E.Thybaud, M.Babut, An index of effluent aquatic toxicity designed by PLS regression, using acute and chronic tests and expert judgements. *Environ. Toxicol. Chem. (in press)*

[3] J.Botterweg, C.Van de Guchte and L.W.C.A.van Breemen, Bioalarm systems : a supplement to traditional monitoring of water quality. H2O, 22, 778-794, 1989.

[4] P.Blandin, Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. Bull. Ecol. 17, 215-307, 1986.

[5] La qualité des milieux aquatiques en Seine-Normandie, Synthèse 1996. Agence de l'Eau Seine-Normandie 1997.

[6] E.Vindimian, P.Namour, B.Migeon. & J.Garric, In situ Pollution Induced Cytochrome P450 activity of Freshwater Fish : *Barbus barbus*, *Leuciscus cephalus* and *Chondrostoma nasus*. *Aquatic Toxicology* **21** : 255-266. 1991.

[7] R.Van der Oost, E.Vindimian, P.J.Van den Brink K.Satumalay, H.Heida & N.Vermeulen, Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (Anguilla anguilla) : III Statistical analyses of relationships between contaminant exposure and biomarkers. *Aquatic toxicology* 39, 45-75, 1997