



ZABR

Zone Atelier Bassin du Rhône

5^{ème} journée thématique de la ZABR

La démarche écotoxicologique : pour la protection et l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques

Synthèse des échanges

Jeudi 24 septembre 2009 – Parc des expositions, Valence (26)

1- Contexte, objectifs et organisation de la journée

La ZABR s'intéresse aux flux de polluants produits à l'échelle globale et des sous-bassins du bassin du Rhône. Elle étudie leur origine, leur impact sur les écosystèmes et leur devenir dans les milieux naturels du bassin du Rhône. Les équipes de la ZABR qui traitent de ces aspects prennent également en considération la complexité environnementale de l'impact de contaminations toxiques, en particulier celui lié aux polluants présents en mélange, et/ ou à faibles doses. Ces travaux en écotoxicologie, répartis au sein de plusieurs laboratoires, sont à partager au sein de la communauté scientifique travaillant sur ce champ de recherche et sont à porter à connaissance des acteurs de l'eau (connaissances, méthodologies, outils, ...). La journée du 24 septembre avait ainsi deux objectifs :

- informer la communauté du bassin (scientifiques, gestionnaires, industriels), des recherches menées et des applications disponibles pour la surveillance et l'évaluation écotoxicologique des milieux.
- Inventorier les besoins d'échanges des acteurs autour des questions de la connaissance et de la gestion des contaminants du bassin du Rhône.

La journée s'est déroulée en 4 temps :

Deux exposés de cadrage ont permis de poser les bases de l'écotoxicologie (Jeanne Garric et Thomas Pelte). Après la présentation de quelques définitions et concepts de base, ces exposés ont notamment permis de définir les enjeux et objectifs de l'approche écotoxicologique pour les scientifiques et les gestionnaires. Toutes ces informations ont été replacées dans le contexte réglementaire actuel.

La prévention : des outils de mesure des dangers liés aux substances chimiques (Eric Thybaud, Clotilde Boillot et Marc Babut). Cette première partie a permis d'apprécier la diversité des méthodologies disponibles pour la mesure et le suivi de différents types d'effluents (urbains, hospitaliers). Ces méthodes ont également été présentées pour différents types de supports (eau et sédiments).

L'évaluation : des outils de caractérisation de la pression des toxiques dans les milieux-liens avec la pression chimique (Olivier Geffard, Bernard Montuelle et Alain Devaux). Cette deuxième partie a été largement illustrée par des retours d'expériences concrets, notamment sur un des sites ateliers de la ZABR (la rivière Morcille).

La quatrième et dernière partie de la journée a permis de mettre au débat des propositions d'actions d'échanges et de recherche à développer, notamment dans le cadre de la ZABR (Anne Clémens, Jeanne Garric et Yves Perrodin).

La journée a été ponctuée par des temps d'échanges parfois introduits au préalable par des gestionnaires (technicien de rivière, directeur de syndicat mixte...). Leurs questions ont permis de mettre l'accent sur les moyens et les possibilités d'intégrer une démarche écotoxicologique dans la stratégie de gestion des milieux aquatiques.

2- Synthèse des présentations et des échanges

2.1-Considérations générales

Il n'est pas inutile de rappeler que l'écotoxicologie vise la connaissance de l'impact des substances chimiques, physiques ou biochimiques, non seulement sur les individus mais aussi sur les populations et les écosystèmes entiers et sur les équilibres qui les caractérisent. Ceci sous tend de connaître nature et devenir des contaminants dans l'environnement.

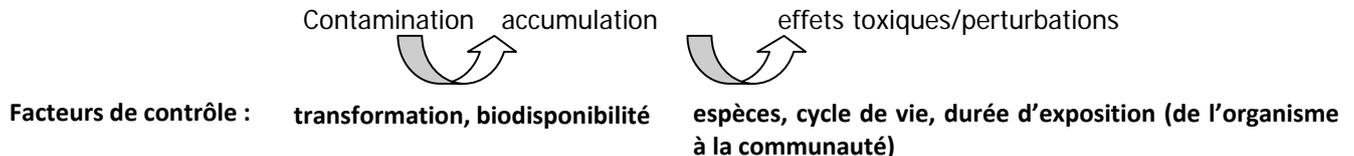
L'écotoxicologie pour diagnostiquer un impact toxique sur les organismes biologiques

Des outils à l'échelle de l'individu, biochimique ou physiologique se développent et sont disponibles pour diagnostiquer un impact toxique sur les organismes du milieu aquatiques, et tenter d'en identifier les causes, qu'il s'agisse de mesures réalisées sur des individus autochtones ou artificiellement exposés dans le milieu (biotests in situ). Néanmoins, compte tenu de la diversité des stress physico-chimiques potentiels dans un milieu donné, de nature anthropiques (un rejet d'effluents par exemple) ou naturelle (augmentation de la température, chute d'oxygène) mais également de la plasticité biologique, associer avec certitude une perturbation biologique mesurée au laboratoire ou sur le terrain avec un stress de nature chimique toxique peut être délicate. Elle impose une connaissance approfondie de la variabilité naturelle (annuelle, cycle de vie) et des facteurs susceptibles de moduler la réponse en dehors de la présence de toxiques, ainsi que la définition de conditions de mesures strictes et standardisées.

L'écotoxicologie pour prédire les effets toxiques sur les organismes

On peut aisément appréhender la complexité à établir une prédiction correcte, compte tenu de la diversité chimique et biologique des facteurs de contrôle de l'impact toxique. Ces différents facteurs sont autant de verrous que les scientifiques auront à lever pour augmenter la puissance prédictive des méthodes et des outils mis en œuvre.

Cette définition implique de connaître et de maîtriser plusieurs facteurs de contrôle majeurs entre la phase d'exposition et l'effet visible sur les organismes.



Différentes méthodes sont pourtant déjà en place depuis plusieurs années pour tenter de répondre à toutes ces interrogations. Il existe des approches prédictives qui reposent sur l'exposition à des contaminants, en conditions contrôlées (biotest) de modèles biologiques, caractérisés par différentes échelles d'organisation biologique (échelle cellulaire jusqu'à la communauté (par exemple avec des mésocosmes). Malgré les informations importantes que ces expérimentations de laboratoire (biotests, microcosmes...) apportent, leur extrapolation sur le milieu (ce qui est fait notamment pour l'établissement des Norme de Qualité Environnementale sur les substances chimiques) est entachée d'une grande incertitude en termes d'effet sur le milieu. Aussi, ils nécessitent d'être confortés dans le temps et par des observations sur le terrain.

L'écotoxicologie au service de la gestion de l'eau et des milieux aquatiques

Si cette science et la réglementation ont progressé simultanément depuis les années 1970, il n'en va pas de même pour le transfert des connaissances scientifiques aux gestionnaires. Les gestionnaires professionnels de l'écotoxicologie restent rares. On peut s'interroger sur la capacité ou la possibilité qu'ont les gestionnaires de mettre en œuvre les connaissances et les outils disponibles dans la communauté scientifique, pour guider leurs programmes d'action.

Deux concepts sont essentiels pour les gestionnaires, il s'agit de :

- la gestion de l'état des milieux ;
- la gestion du risque (en termes de messages, de décisions).

La gestion de l'état consiste à apprécier les conséquences des phénomènes écotoxiques sur les organismes et d'engager des programmes de reconquête de l'état écologique des milieux. Les situations dans lesquelles il est pertinent d'engager des diagnostics écotoxicologiques sont les secteurs qui subissent un impact avéré et dont la qualité écologique est dégradée.

La gestion du risque consiste, elle, à prendre des mesures alors que les conséquences de la contamination ne sont pas encore visibles. Il s'apprécie en croisant le danger du aux polluants et l'exposition des organismes à ces polluants.

Le danger lié à une substance peut être caractérisé a priori. Pour cela il existe des indicateurs pour déterminer le niveau de concentration sans effet (NOEC=No Observed Effect Concentration et la PNEC=Predicted No Effect Concentration). Ces valeurs sont issues des résultats apportés par les biotests de laboratoire, le plus souvent normalisés.

Le danger peut aussi être caractérisé a posteriori lorsque les substances sont rejetées. Il s'agira dans ce cas d'associer aux analyses chimiques « traditionnelles », des tests écotoxicologiques sur échantillons du milieu afin de quantifier l'impact dû à un possible cocktail de contaminants. Les tests les plus fréquemment utilisés sont les tests daphnies ou algues qui permettent d'établir une alerte de premier niveau.

Des valeurs seuils pour gérer le risque environnemental

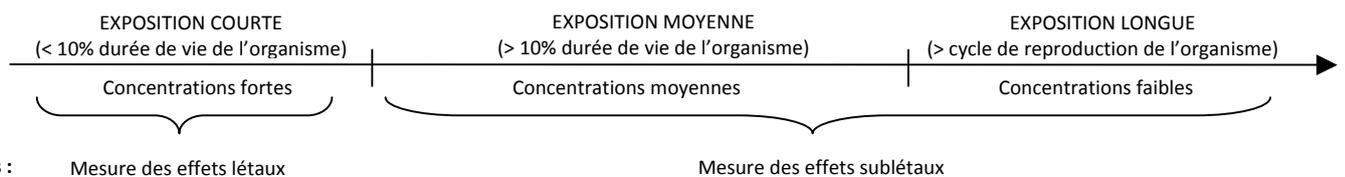
Le gestionnaire qui met en place sa stratégie de gestion des milieux aquatiques a plusieurs types de valeurs seuils à sa disposition. Il peut s'agir de **grille d'interprétation** (sans valeur réglementaire stricte, ex : SEQ-Eau), de **Normes de Qualité Environnementales** (les NOE sont présentes dans différents textes réglementaires, notamment dans la DCE pour établir le bon état chimique et soutenir le bon état écologique) et de **normes sanitaires** (elles intègrent l'homme comme consommateur final d'une ressource). Dans tous les cas ces valeurs seuils ont toutes pour objectif d'aider le gestionnaire à interpréter les valeurs observées et à favoriser la réduction du risque environnemental.

2.2 La prévention : des outils de mesure des dangers liés aux substances chimiques

Comme nous l'avons vu précédemment, l'évaluation des effets toxiques potentiels des effluents sur la faune et la flore aquatique est basée, au moins en partie, sur la réalisation d'essais de toxicité de laboratoire : les bioessais.

Les bioessais : compromis entre représentativité et faisabilité

Les bioessais permettent d'évaluer à priori la toxicité d'une substance ou d'un échantillon environnemental. Pour cela, est déterminée la concentration de l'échantillon où la durée d'exposition nécessaire pour entraîner un effet donné dans la population test (l'effet recherché peut être létal ou sub-létal, par exemple la chute de la reproduction).



Effets toxiques :

Cependant la grande diversité des espèces animales et végétales dans les écosystèmes aquatiques rend le choix des espèces modèles particulièrement complexe. On peut citer quelques critères qui aident au choix de l'espèce à des fins de bioessais :

- le rôle important dans la structure et le fonctionnement des biocénoses ;
- la présence dans différents biotopes ;
- la biologie, les habitudes alimentaires, la physiologie ;
- la sensibilité et le comportement face aux toxiques

Les bioessais monospécifiques sur une substance ne prétendent pas simuler toutes les conditions de l'environnement et ont pour objectif unique de définir la dangerosité intrinsèque d'une substance, dans des conditions bien connues, indépendamment des conditions du milieu récepteur, qui pourra moduler la biodisponibilité (ie sa capacité à atteindre et affecter une cible biologique) de la substance et des interactions biotiques potentielles.

Lorsque les connaissances chimiques et biologiques sont disponibles, il est parfois possible de prendre en compte certaines caractéristiques des milieux (par exemple la dureté, la quantité de carbone organique) pour réévaluer les résultats des biotests en fonction d'une situation particulière.

Les bioessais peuvent être aussi réalisés sur des échantillons du milieu (effluent, sédiment) afin de se rapprocher de la réalité et de la complexité environnementale (mélanges de substances, interactions toxiques et facteurs géochimiques).

Certaines contraintes existent, comme la difficulté de faire des tests sur le long terme (compte tenu de l'évolution de l'échantillon au cours du temps par exemple), l'impossibilité de répéter la mesure lorsque l'échantillon est très variable dans le temps (effluent de station d'épuration par exemple) (ou l'espace : sédiment). Ce dernier point, doit également interroger sur la représentativité de l'échantillon que l'on teste sur la réponse attendue. Enfin, il est souvent impossible de préciser avec certitude la ou les substances à l'origine de l'éventuelle toxicité.

Illustration de l'usage des tests d'écotoxicité pour le suivi et la gestion des effluents hospitaliers

Le but de cette étude était de caractériser l'écotoxicité des rejets d'un hôpital en utilisant des batteries de bioessais. Une batterie simple, composée de 3 bioessais très couramment utilisés en écotoxicologie et une batterie complète, composée des 3 bioessais de la batterie simple plus 4 autres bioessais plus spécifiques. L'intérêt de coupler des bioessais étant d'obtenir des informations complémentaires et non redondantes.

Les résultats apportés par ces batteries de bioessais ont permis, en lien avec des études physico-chimiques, de conclure à l'écotoxicité des effluents de l'hôpital et d'émettre des hypothèses plus fiables quant à l'origine de la contamination dans le process hospitalier.

L'écotoxicologie pour caractériser la dangerosité des sédiments

Les sédiments constituent le lieux de stockage privilégié de nombreux contaminants et peuvent se comporter comme des réservoirs potentiels de toxiques. Ils constituent de plus l'habitat de nombreuses espèces benthiques ou pélagiques, ou un point de passage obligé pour certaines étapes de la vie d'organismes. Les tests de toxicité adaptés à ce compartiment existent depuis de nombreuses années. Nous citerons pour l'exemple le test de survie et de croissance du chironome *C. riparius*, dont les larves vivent dans le sédiment jusqu'au quatrième jour. L'essai est réalisé en laboratoire simultanément sur des sédiments témoins et sur les sédiments à tester. Au bout de dix jours, on mesure la survie et la croissance des organismes. Certains de ces tests peuvent également être réalisés sur site.

Les sédiments contaminés, lorsqu'ils sont dragués, sont considérés comme des déchets. Ce point est essentiel car leur gestion peut alors être spécifique, notamment s'ils sont classés dangereux. C'est par exemple l'enjeu du projet SEDIMARD 83 initié par le Conseil Général du Var, qui aborde la question d'un protocole d'évaluation pour les sédiments marins mis à terre. Un groupe de travail ministériel débat sur la rédaction d'un arrêté qui précisera le protocole d'évaluation applicable à la fois aux sédiments marins mais aussi d'eau douce.

On retiendra que la connaissance des effets écotoxicologiques des sédiments est difficile, car il s'agit d'un milieu hétérogène et complexe, pour lequel les connaissances sont encore imparfaites, mais aussi aux moyens limités consacrés à leur caractérisation[BM1].

2.3 L'évaluation : des outils de caractérisation de la pression des toxiques dans les milieux-liens avec la pression chimique

En réponse à la limite de représentativité environnementale des tests en laboratoire, l'écotoxicologie a développé plusieurs outils qui ont pour objectifs de diagnostiquer la présence et l'impact de polluants soit en prélevant directement des organismes du milieu soit en mettant en place des approches *in situ*.

Il existe pour cela différentes méthodes : l'encagement, la colonisation ou le transfert d'organismes dans le milieu naturel.

Ces manipulations permettent notamment de limiter les artefacts liés au prélèvement et à la manipulation d'échantillons environnementaux, d'intégrer les fluctuations des caractéristiques physico-chimiques des milieux ainsi que des apports en contaminants, tout en maîtrisant parfaitement la durée d'exposition des organismes. On améliore ainsi le réalisme des expositions aux contaminants. Mais si ces approches semblent adaptées, il ne faut pas oublier que leurs applications sur le terrain sont délicates et restent pour le moment rares. Le choix de l'organisme encagé, sa représentativité pour l'écosystème étudié ou les variables biologiques étudiées sont autant de facteurs à maîtriser pour espérer obtenir les résultats les plus pertinentes possibles.

A ce jour, ces méthodologies sont utilisées de manières très variables selon les auteurs et il faut encore des développements avant d'obtenir une méthode de travail *in situ* standardisée, à l'image des bioessais.

Le lien pression-impact : de l'étude de la cellule à la communauté, la démarche PICT et l'écotoxicologie génétique

La démarche PICT (Pollution Induced Community Tolerance) repose sur deux approches complémentaires qui permettent d'évaluer la réponse de communautés à un stress environnemental :

- une approche structurale et taxonomique des communautés ;
- une approche fonctionnelle (suivi des activités métaboliques).

Il s'agit concrètement de déterminer le niveau de tolérance d'une communauté à la présence de contaminants. Très généralement, cette méthode est mise en œuvre sur les communautés microbiennes (bactéries, algues) avec des applications en milieu terrestre et aquatique.

La mise en application de cette méthode peut notamment aider la présence d'un contaminant particulier dans le milieu (approche « rétrospective ») et parfois à identifier la part prépondérante de certaines substances dans un contexte de pollution multiple. Elle peut également être un élément indicateur de la récupération des milieux.

Si l'étude des communautés s'avère pertinente pour caractériser le lien pression-impact, on peut également aborder une échelle beaucoup plus petite : la cellule.

Dans ce cas, on peut par exemple suivre l'impact direct ou indirect de molécules génotoxiques sur l'ADN. En effet l'ADN, qui est le support de l'information génétique et de l'hérédité, peut être touché soit au niveau de sa structure soit au niveau de son expression, avec d'éventuelles conséquences sur la survie à terme de la population concernée.

Pour quantifier ces dommages, un des biomarqueurs de génotoxicité utilisé est la mesure des cassures simple et double brins de l'ADN. Ces cassures peuvent être à l'origine de cancérogenèse, de phénomènes de mutagenèse mais aussi générer des effets héréditaires. Ces effets, dans certaines conditions, peuvent impacter la capacité de reproduction des organismes mais aussi leurs structures génétiques, deux éléments qui conditionnent le devenir de la population.

Il est ainsi pertinent d'utiliser ce biomarqueur comme biomarqueur d'exposition et d'effet génotoxique.

3- Partage de savoirs et mises en œuvre pratiques – les modalités d'actions

La journée a révélé la nécessité de mettre en synergie la communauté scientifique et les acteurs de l'eau. Les scientifiques ont développé de nombreux outils. Certains (comme les bio-essais) pourraient être utilisés relativement aisément ;

Un usage plus généralisé des outils écotoxicologiques pour évaluer la qualité d'un milieu, ou les risques toxiques qu'il encoure permettrait du reste un retour d'expérience vers les chercheurs qui fait défaut aujourd'hui.

Néanmoins les gestionnaires ont besoin d'être aiguillés dans leur démarche : quand doivent ils lancer une démarche écotoxicologique, qui peut les conseiller ? comment faire le tri entre tous les outils existants ? Les guides consacrés à ces champs d'investigation sont-ils suffisamment détaillés pour permettre aux gestionnaires d'utiliser les méthodes de l'écotoxicologie, dès qu'il le juge utile ? Des formations sont-elles à mettre en place pour faciliter l'appropriation de ces outils par les acteurs ?

La journée a souligné l'importance de travailler sur site. La ZABR conduit des travaux de recherche dans le domaine de l'écotoxicité sur l'OTHU, l'Ardière et l'Axe Rhône. Faut-il à l'échelle du bassin, renforcer les démarches expérimentales et identifier un site démonstrateur de référence ?

Une telle approche pourrait être utile :

- aux scientifiques : l'occasion pour eux de développer des outils pour mieux comprendre le rôle des toxiques sur les écosystèmes avec une ambition d'observation de l'évolution du milieu sur le long terme.
- aux acteurs de l'eau : une opportunité pour échanger avec les scientifiques pour une appropriation des outils développés in situ et plus généralement pour se familiariser avec l'écotoxicologie.

La ZABR propose de questionner par e-mail l'ensemble des participants à la journée pour que ceux-ci puissent préciser leurs besoins spécifiques pour développer et s'approprier les outils et les méthodes issues l'écotoxicologie (pour l'utiliser pour caractériser les dangers et les sources de pollution, et l'impact sur les milieux récepteurs). Une réunion multiacteurs permettra à l'issue de l'enquête d'identifier les dynamiques et outils à développer en priorité et les acteurs à mobiliser pour les mettre en œuvre.