



eau
seine
NORMANDIE

PROGRAMME PIREN-SEINE

Programme Interdisciplinaire de Recherche
sur l'Environnement de la Seine



Le risque écotoxicologique dans le bassin de la Seine

Comprendre et diagnostiquer
l'impact de la contamination
sur les organismes

Sous la direction de Catherine Gourlay-Francé

ensemble
DONNONS
vie à l'eau

Agence de l'eau

#12

L'Agence de l'eau Seine-Normandie a pour mission, conjointement avec les acteurs de l'eau, de conduire les eaux du bassin de la Seine vers le bon état écologique.

Depuis 1989, le Programme de Recherche Interdisciplinaire sur l'Environnement de la Seine (PIREN-Seine) nous aide à mieux comprendre le fonctionnement du bassin et contribue aux décisions de l'Agence.

Ce programme de recherche a apporté un éclairage décisif sur la manière dont les rivières et les zones humides participent à l'épuration de nos effluents, sur la nécessité de réduire nos rejets en phosphore pour limiter l'eutrophisation, sur l'impact attendu du changement de pratiques culturales afin de réduire la contamination des eaux par les nitrates, etc.

Partenaire du PIREN-Seine, l'Agence de l'eau souhaite valoriser l'important travail accompli et soutenir les recherches futures en contribuant à la publication de ces travaux.

C'est l'objet de cette collection que de faire partager au plus grand nombre ces connaissances longuement mûries.

Michèle Rousseau

Directrice générale de l'Agence de l'eau Seine-Normandie

Le programme de recherche PIREN-Seine est né en 1989 de la volonté du CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) de faire se rencontrer les chercheurs de diverses disciplines (une centaine de personnes appartenant à une vingtaine d'équipes) et les acteurs qui ont en charge la gestion des ressources en eau (une dizaine d'organismes publics et privés) dans cet espace de 75 000 km² constituant le bassin hydrographique de la Seine. En s'inscrivant dans la durée, tout en redéfinissant périodiquement ses objectifs et ses orientations, le programme, basé sur la confiance et le dialogue, a permis l'émergence d'une culture scientifique partagée entre gestionnaires et scientifiques. Les recherches à caractère appliqué sont menées dans un cadre coordonné privilégiant le développement de notre capacité à analyser, à comprendre et à prévoir le fonctionnement de cet ensemble régional d'écosystèmes qu'est le bassin de la Seine : comment ce territoire, avec sa géologie, son climat, sa végétation, mais aussi avec ses activités agricoles, domestiques et industrielles, fabrique-t-il à la fois le milieu aquatique lui-même et la qualité de l'eau de nos rivières et de nos nappes ?

Par un pilotage souple et participatif, le programme a su concilier, au sein d'une même démarche, les exigences d'une recherche fondamentale qui vise à fournir les clés pour comprendre, avec celles de la demande sociale qui attend des outils pour guider l'action.

Mais la demande sociale ne s'exprime pas seulement par le questionnement technique des gestionnaires. Elle passe aussi par le débat public avec les élus, les associations, les citoyens. L'état présent du milieu aquatique résulte de l'action millénaire de l'homme sur son environnement. Sa qualité future dépendra de ce que nous en ferons ; ce qui appelle un débat sur la manière dont nous voulons vivre sur le territoire qui produit l'eau que nous buvons, compte tenu des contraintes que nous imposent la nature et la société. L'ambition du PIREN-Seine, en tant que programme de recherche publique engagé, est aussi d'éclairer un tel débat. C'est dans cet esprit que nous avons entrepris la publication de cette collection de travaux. Elle veut offrir aux lecteurs, sur les sujets porteurs d'enjeux en matière de gestion de l'eau, les clés de la compréhension du fonctionnement de notre environnement.

Jean-Marie Mouchel et Gilles Billen

Direction du Programme PIREN-Seine



La collection du programme PIREN-SEINE

Cette collection analyse différents aspects du **fonctionnement du bassin de la Seine** et de ses grands affluents, soit 75 % du territoire d'intervention de l'Agence de l'eau Seine-Normandie. D'autres programmes, en liaison avec le PIREN-Seine, s'intéressent à des régions ou des problématiques différentes. Ainsi Seine-Aval se focalise sur l'estuaire de la Seine et édite une collection similaire depuis 1999.



#1 - Le bassin de la Seine



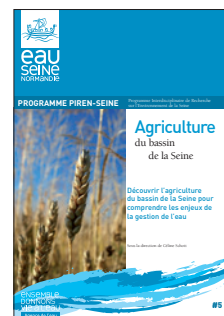
#2 - L'hydrogéologie



#3 - La pollution par les nitrates



#4 - Le peuplement de poissons



#5 - L'agriculture



#6 - L'eutrophisation des cours d'eau



#7 - Les métaux



#8 - La contamination microbienne



#9 - La micropollution organique



#10 - L'eau dans les campagnes avant l'ère industrielle



#11 - Les petites rivières urbaines



#12 - Le risque écotoxicologique



#13 - Impact du changement climatique sur les ressources en eau



#14 - Les pesticides



#15 - La cascade de l'azote

La couleur de chaque fascicule renvoie à l'un des quatre objectifs principaux de l'Agence de l'eau :



Développer la gouvernance, informer et sensibiliser sur la thématique de l'eau

Satisfaire les besoins en eau, protéger les captages et notre santé

Reconquérir les milieux aquatiques et humides, favoriser la vie de la faune et de la flore

Dépolluer, lutter contre les pollutions de l'eau et des milieux aquatiques

Le risque écotoxicologique dans le bassin de la Seine

Auteurs :

Catherine Gourlay-Francé¹, Françoise Vincent-Hubert¹, Marie-Hélène Tusseau-Vuillemin²,
Wilfried Sanchez³, Alain Geffard⁴, Yves Lévi⁵, Lucie Ozio⁵, Pierre Labadie⁶, Jean-Marie Mouchel⁶,
Mireille Raguet⁷, Sylvain Théry⁸.

4

Numéro ISBN : 978-2-918251-11-8

Numéro ISSN : 1968-5734

Dépôt légal : décembre 2011



RÉSUMÉ

Le PIREN-Seine s'intéresse à la présence dans le bassin versant de la Seine de contaminants d'origines agricole, industrielle et domestique depuis une vingtaine d'années. Ces polluants, qui se retrouvent parfois à des concentrations très faibles dans l'eau, peuvent avoir des impacts sur l'homme et l'environnement qui restent peu connus. La présence de ces substances toxiques suscite un intérêt majeur auprès des gestionnaires de la ressource comme des consommateurs. Les perturbations endocriniennes, les effets cancérogènes, la présence de résidus de médicaments sont autant de sujets d'inquiétude largement médiatisés et débattus.

Pour garantir la protection de la santé humaine et du milieu aquatique, la réglementation a défini des normes de qualité environnementale, les NQE. En application de la directive cadre sur l'eau, des seuils de concentrations moyennes et maximales ont été édictées par la directive fille 2008/105/EC du 16 décembre 2008 pour les 33 substances prioritaires initialement listées. Des NQE provisoires sont aussi disponibles pour plus de 100 autres substances. Les NQE reposent sur l'évaluation approfondie des effets toxiques en laboratoire de ces molécules.

L'écotoxicologie traite des effets toxiques des substances chimiques sur les organismes vivants et l'environnement. Ce thème de recherche est étudié aujourd'hui par les équipes d'écotoxicologie, d'écologie et de chimie du PIREN-Seine, notamment via des études sur trois sites pilotes : le bassin de l'Orge, le bassin de la Vesle et l'axe Seine.

Comment mesurer l'impact de ces substances ?

Les analyses chimiques étant insuffisantes pour évaluer le risque des substances toxiques dans le milieu, les scientifiques étudient d'autres méthodes. Les bio-essais réalisés en laboratoire en font partie. Regroupant un ensemble très vaste d'essais réalisés sur des échantillons de l'environnement, ils permettent de caractériser le « potentiel toxique », comme la présence des perturbateurs endocriniens et la génotoxicité des masses d'eau. *In situ*, la bioaccumulation, mesurée sur des organismes « sentinelles » contribue à l'évaluation de l'exposition aux micropolluants. Enfin, les biomarqueurs constituent une solution prometteuse pour diagnostiquer l'impact sur l'environnement des contaminants chimiques.

SOMMAIRE

7 Introduction

 QU'EST-CE QUE L'ÉCOTOXICOLOGIE ?

8 COMPRENDRE

Les risques toxicologiques et écotoxicologiques

9 Comment mesure-t-on la toxicité d'une molécule ?

- > Toxicité aiguë et toxicité chronique
- > Différents types d'effets toxiques



LES ATTEINTES DE L'ADN PAR LES AGENTS GÉNOTOXIQUES



LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

12 L'évaluation du risque écotoxicologique

- > Que dit la réglementation ?
- > Définition des NQE

15 Le risque pour le bassin de la Seine

- > Les travaux du PIREN-Seine



COMMENT DÉFINIR UNE NQE : EXEMPLE DU ZINC

- > Situation dans le bassin de la Seine
- > Les défauts de l'approche par les NQE



DES SITES «PILOTES» AU PIREN-SEINE

20 MESURER

Le potentiel toxique en laboratoire

21 Le principe des bio-essais

22 Les applications aux eaux du bassin de la Seine

- > Le paramètre «matières inhibitrices» de la redevance des agences de l'eau
- > La caractérisation des perturbateurs endocriniens
- > La génotoxicité des masses d'eau

26 AMÉLIORER

L'évaluation de l'exposition aux micropolluants


27 Donner un sens écotoxicologique à la mesure

- > Biodisponibilité des métaux dans l'eau
- > Biodisponibilité des contaminants dans l'eau

29 Doser les contaminants *in situ* grâce aux échantillonneurs passifs

- > La DGT, outil pour la mesure *in situ* des métaux labiles
- > La SPMD, outil pour évaluer la concentration dissoute libre des contaminants organiques

32 La bioaccumulation

- > Un outil de surveillance du milieu
-  LES SENTINELLES DU PIREN-SEINE
- > Lien entre la contamination du milieu et celle du biote
- > Modélisation de la bioaccumulation



BIOACCUMULATION ET MÉTABOLISATION

38 DIAGNOSTIQUER

L'impact de la contamination sur les organismes du milieu

39 L'évaluation du risque ne permet pas de prédire l'impact *in situ*

40 Le principe des biomarqueurs

- > Différents biomarqueurs pour mesurer les impacts



LES BIOMARQUEURS DE GÉNOTOXICITÉ, MODE D'EMPLOI

45 Vers l'écotoxicologie des populations et des communautés

- > Observation des malformations et pathologies
- > La méthode du poids de l'évidence

48 Conclusion

L'application de la réglementation nationale et européenne participe à améliorer la gestion des risques de pollution. Ainsi, certaines familles de polluants spécifiques (PCB, dioxines, pesticides organochlorés, retardateurs de flamme...) sont toujours présents dans l'environnement mais à des teneurs nettement inférieures à ce qu'elles étaient dans le passé. Les investissements réalisés pour le traitement d'effluents divers permettent en outre de réduire les pollutions à la source, comme les macro-pollutions organiques issues essentiellement des activités domestiques qui sont aujourd'hui limitées grâce aux unités modernes d'épuration des eaux usées.

Cependant, de nombreuses questions demeurent ouvertes concernant la multitude de nouvelles molécules de synthèse apparues dans l'environnement en quelques décennies. L'industrie chimique a connu un essor majeur depuis les années 1950 et ses produits sont présents dans pratiquement tous les secteurs de la vie moderne : alimentation, peintures, matériel informatique et électroménager, cosmétiques, détergents, médicaments, textiles, matériaux du bâtiment, des infrastructures et des transports... Une grande partie de ces molécules se diffuse dans l'atmosphère, imprègne les sols, les surfaces et contamine les rivières. L'eau étant un excellent solvant, elle reçoit et entraîne une multitude de contaminants organiques et minéraux. Certains proviennent des eaux pluviales ou des effluents des stations d'assainissement urbaines ou industrielles, d'autres sont rejetés dans le milieu lors des pratiques agricoles ou de l'entretien des voies ferrées et des villes.

La contamination des ressources en eau superficielles et souterraines est le reflet direct des activités humaines. En cela, le bassin versant* de la Seine est soumis à une pression de contamination particulièrement forte liée aux activités agricoles intenses dans l'amont du bassin et à la pression urbaine et industrielle en aval.

La présence de nombreux contaminants d'origine agricole, domestique ou industrielle dans les eaux du bassin est observée depuis longtemps, comme en témoignent les travaux réalisés par différents

organismes au cours des vingt dernières années dont le PIREN-Seine. Les concentrations de contaminants sont parfois très faibles, de l'ordre du nanogramme de molécule par litre d'eau. Mais la grande variété de produits conduit à l'exposition permanente des organismes. Évaluer la pression chimique implique donc d'analyser un grand nombre de produits à faible niveau de concentration. Cette pression chimique sur le milieu aquatique s'accompagne de pressions physiques et morphologiques sur les habitats et d'une perturbation des cycles biogéochimiques* des milieux. Inéluctablement, des effets biologiques s'observent sur les organismes à tous les niveaux, du trouble individuel à la modification des communautés. Il est néanmoins encore difficile de décrire avec suffisamment d'objectivité les liens entre les effets biologiques néfastes observés et les divers types de pressions auxquels sont soumis ces organismes.

La présence et l'impact éventuel des substances toxiques dans l'environnement suscitent un intérêt majeur auprès des gestionnaires du milieu comme des consommateurs. Les perturbations endocriniennes*, les effets cancérogènes, la présence de résidus de médicaments sont autant de sujets d'inquiétude largement médiatisés et débattus. Ils exigent une évaluation scientifique, objective et rigoureuse des risques pour les écosystèmes (écotoxicologie) mais aussi pour la santé humaine (épidémiologie*, toxicologie*).

Qu'est-ce que l'écotoxicologie ?

C'est René Truhaut, toxicologue français, qui introduit pour la première fois en 1977 cette notion : « l'écotoxicologie traite des effets toxiques des substances [...] sur les organismes vivants, sur les populations et les communautés au sein d'écosystèmes définis. Cela comprend les voies de transfert de ces agents et leurs interactions avec l'environnement ».

L'écotoxicologie est un domaine très large, qui englobe à la fois le devenir des contaminants dans l'environnement (chimie), leurs effets toxiques sur les organismes vivants pris individuellement (toxicologie* animale et végétale), mais aussi sur les populations ou sur les communautés (domaine de l'écologie).

À la différence de la toxicologie dont l'objet est l'impact des contaminants sur l'homme, l'écotoxicologie ne privilégie pas une espèce, mais cherche *in fine* à évaluer les impacts délétères au niveau écologique le plus intégrateur.



les risques toxicologiques et écotoxicologiques

Un toxique est une substance susceptible de provoquer des perturbations au niveau des fonctions d'un organisme vivant. Le risque lié à une substance toxique dans un écosystème apparaît quand cette substance est présente dans l'environnement à des concentrations susceptibles d'induire des effets délétères. On parle alors de micropolluants. Pour garantir la protection de la santé humaine et de l'environnement face à ces risques, la réglementation a défini des normes de qualité environnementale, des NQE, sur la base de leur toxicité pour l'homme et l'environnement.



Comment mesure-t-on la toxicité d'une molécule ?

Les effets toxiques peuvent s'exprimer à court, moyen ou long terme selon différents modes d'action. Ils dépendent de la concentration dans le milieu, mais aussi des mécanismes de réparation que l'organisme concerné peut posséder ou développer pour se protéger.

TOXICITÉ AIGUË ET TOXICITÉ CHRONIQUE

La toxicité aiguë résulte d'une exposition au toxique sur un temps court par rapport à la durée de vie de l'organisme. Elle est généralement liée à une forte dose mais peut également être associée à une concentration plus faible d'une substance très toxique. Elle conduit à de graves troubles physiologiques voire à la mort des organismes. Les pathologies considérées sont nécessairement à développement rapide car elles sont détectées en employant des essais de courte durée.

La toxicité chronique fait suite à une exposition à un polluant, généralement à de faibles concentrations, mais sur une longue durée. Elle concerne aussi les pathologies qui se développent dans la durée. Les effets chroniques sont favorisés par des contaminants qui s'accumulent durablement dans les tissus de l'organisme. Elle se traduit souvent par des effets tels que des perturbations de la reproduction, des malformations lors du développement, des retards de

croissance, des cancers, une baisse de l'immunité... Ces effets ne peuvent être mis en évidence qu'à l'échelle de la vie de l'organisme. C'est le cas en particulier des molécules dites CMR, c'est-à-dire cancérogènes, mutagènes* ou toxiques pour la reproduction.

La toxicité aiguë peut être mesurée par la concentration létale (CL) pour un pourcentage de la population exposée pour une durée déterminée. La concentration effectrice (CE) est celle provoquant un effet observé.

Ainsi, la CL_{50} (48 h) définit la dose qui provoque la mort de 50 % des organismes exposés à un toxique pendant 48 heures. La dose létale (DL) est la dose transférée dans l'organisme par ingestion, inhalation ou contact, provoquant la mort.

Dans le cas de la toxicité chronique, ce sont plutôt des seuils d'innocuité qui sont recherchés. La mesure est souvent la plus forte dose sans effet nocif observé *no-observed adverse effect limit* (NOAEL) ou, exprimée en concentration dans le milieu, la *no-observed effect concentration* (NOEC), ou encore, la concentration effectrice à 10 % par exemple, CE_{10} . Ces mesures sont d'interprétation délicate car l'absence d'effet ou des effets limités ne peuvent être évalués de manière convaincante que par des expérimentations de longue durée, souvent coûteuses et plus difficiles à mener. D'autre part, les effets recherchés peuvent être délicats à détecter comme dans le cas de la perturbation du fonctionnement d'un organe ou le développement très lent d'un cancer.

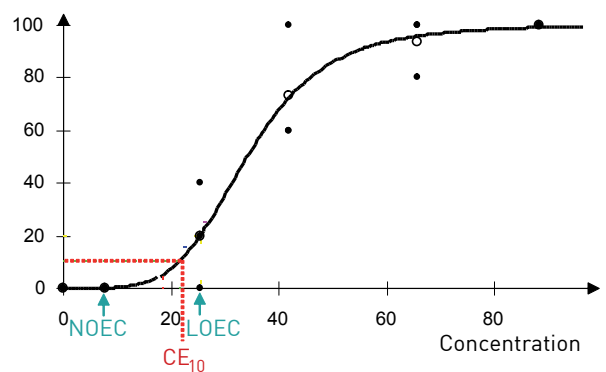
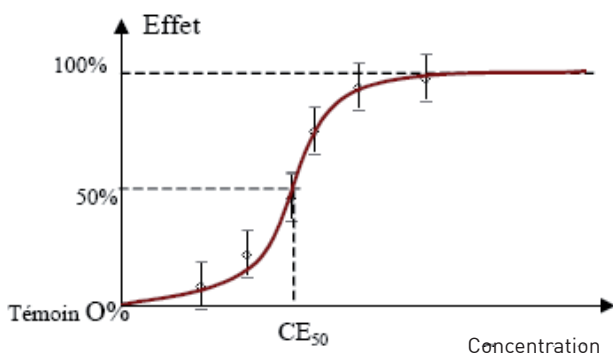


Figure 1 : Courbes doses-réponses de toxicité et représentation de la concentration effectrice à 50 % (CE_{50}) pour la toxicité aiguë et, dans le cas des courbes de toxicité chroniques, de la NOEC (no-observed effect concentration), la LOEC (lowest-observed effect concentration) et la concentration effectrice à 10 % (CE_{10}).

DIFFÉRENTS TYPES D'EFFETS TOXIQUES

Les effets toxiques sont de plusieurs types :

- les neurotoxiques perturbent le fonctionnement ou le développement des cellules nerveuses. La neurotoxicité est une forme courante de toxicité aiguë ;
- les reprotoxiques* impactent sur les capacités de reproduction ou génèrent des effets délétères sur la descendance ;
- les génotoxiques* provoquent des dommages du patrimoine génétique (ADN*). Lorsque ces dommages à l'ADN deviennent héréditaires, on parle alors d'effets mutagènes ;
- les cancérigènes peuvent induire le développement d'un cancer ou augmenter sa fréquence d'apparition ;
- les perturbateurs endocriniens interagissent avec l'activité hormonale des organismes animaux en perturbant la formation, le transport sanguin, la diffusion, l'interaction avec les récepteurs ou la métabolisation* et l'excrétion des hormones;
- les immunotoxiques provoquent une baisse de la protection immunitaire et rendent les organismes plus sensibles aux infections microbiennes ou, au contraire, la stimulent successivement et entraînent des manifestations allergiques.



LES ATTEINTES DE L'ADN PAR LES AGENTS GÉNOTOXIQUES

Différentes lésions peuvent être générées dans le patrimoine génétique suite à l'exposition à des agents chimiques ou physiques. Les lésions les plus fréquemment observées chez les organismes aquatiques sont la formation de sites abasiques, l'oxydation de bases (ex. 8-oxoguanine), les cassures de brins d'ADN, les adduits* à l'ADN, qui peuvent aboutir à des aberrations chromosomiques, détectées par le test « micronoyaux ».

Les lésions de l'ADN sont en général réparées mais dans certains cas la réparation n'est pas fidèle à l'information génétique. Si le niveau d'erreur est trop élevé, on aboutira alors à des mutations ou des apoptoses. Si des mutations trop importantes ont lieu sur des gènes spécifiques, elles peuvent alors jouer un rôle majeur dans la genèse des cancers.

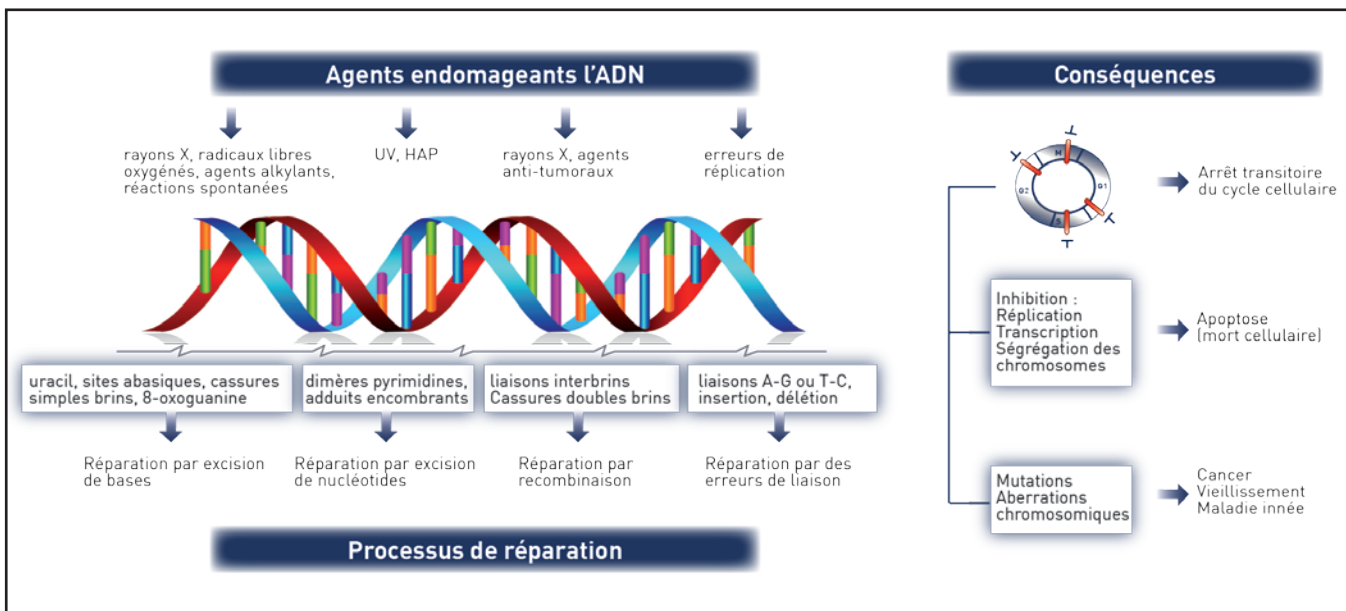


Figure 2 : Les différentes formes d'atteinte de l'ADN par les composés chimiques génotoxiques.

Les effets sont plus ou moins visibles sur des organismes exposés, selon le mode d'action toxique du polluant (ou du mélange de polluants) et les concentrations présentes dans l'environnement. Certains pesticides sont par exemple très toxiques sur des insectes ou des parasites à de très faibles

teneurs car ils ont été formulés pour cela. Pour d'autres organismes, et notamment pour l'homme, et en particulier pour les molécules qui sont fortement bioaccumulés*, cancérigènes ou perturbateurs endocriniens, les effets chroniques n'apparaissent qu'à long terme.

LES NOTIONS CLÉS

Les perturbateurs endocriniens

Les glandes endocriniennes sécrètent des hormones qui agissent comme des « messagers chimiques ». En se liant à des récepteurs spécifiques, les hormones activent les nombreuses voies de synthèse donnant lieu à la production de protéines indispensables pour assurer les grandes fonctions physiologiques comme le développement, la croissance et la reproduction. Différentes fonctions nécessitent des hormones pour développer des actions vitales pour l'organisme :

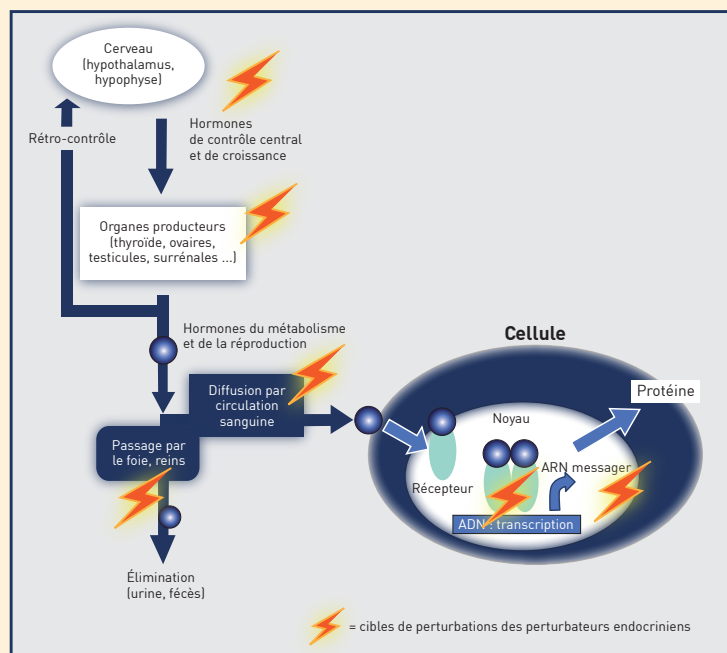


Figure 3 : Schéma du système endocrinien et sites d'action possibles des molécules à effets perturbateurs endocriniens (schéma Y. Levi).

Les perturbateurs endocriniens peuvent agir de trois façons différentes :

- en imitant l'action d'hormones naturelles ;
- en bloquant les récepteurs recevant les hormones dans les cellules, empêchant ainsi l'action des hormones ;
- en agissant sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones, modifiant ainsi les concentrations circulantes d'hormones naturelles.

Des perturbations endocriniennes dues aux produits chimiques ont jusqu'à présent été constatées et étudiées sur le système hormonal stéroïdien (estrogènes, androgènes*...) et thyroïdien.

L'évaluation du risque écotoxicologique

Le risque écotoxicologique (ou risque écotoxique) lié à la présence d'un contaminant chimique varie en fonction de la toxicité intrinsèque de la molécule (ou du mélange), de sa quantité dans l'environnement (dose d'exposition) et de la fragilité du ou des organisme(s) exposés, soit par contact direct, soit via la chaîne alimentaire.

Lorsque tous ces éléments sont connus, il est théoriquement possible de calculer le risque lié à une contamination, ce qui permet aux décideurs de fixer des niveaux d'acceptabilité. Cependant, ceci n'a été réalisé que pour un petit nombre de molécules et d'organismes biologiques.

QUE DIT LA RÉGLEMENTATION ?

Les guides techniques européens (TGD*) (en appui à la directive 76/769/CEE ou au règlement REACH*) préconisent une démarche standardisée pour évaluer le risque lié à une substance. Il s'agit de calculer une concentration prédite dans l'environnement (*predicted environmental concentration*, PEC) et une concentration prédite sans effet pour les organismes exposés (*predicted no effect concentration*, PNEC). Un rapport PEC/PNEC supérieur à 1 est alors considéré comme caractéristique d'un risque possible pour le milieu.

L'évaluation des PNEC se fait à partir des données de toxicité de la substance. Les effets toxiques aigus ou chroniques pour les organismes vivants sont évalués en laboratoire en conditions contrôlées. Les protocoles, en général normalisés, font appel à des animaux, plantes, ou algues choisis pour leur sensibilité aux composés toxiques, leur facilité d'élevage, et parfois le caractère bien décrit de leur structure génétique. Il importe d'utiliser des populations les plus homogènes possibles pour limiter la variabilité des résultats. Pour prendre en compte les sensibilités des espèces aux contaminants, la procédure d'évaluation de la PNEC demande que plusieurs organismes soient étudiés, en représentant les différents niveaux de la chaîne alimentaire (niveaux trophiques*).

Lorsque des données fiables de toxicité sont disponibles, ce sont les résultats des essais sur l'espèce la plus sensible à une substance qui déterminent la PNEC. Il est fait ainsi l'hypothèse que



si cette espèce n'est pas affectée, le fonctionnement et la structure de l'écosystème ne le sont pas non plus.

Quand un grand nombre de données de toxicité est disponible, une méthode statistique est appliquée. Elle permet de construire une courbe de distribution de sensibilité des espèces où le pourcentage d'espèces affectées est fonction de la concentration d'exposition. La valeur de référence est déterminée pour la protection de 95 % des espèces (figure 4).

Des facteurs d'extrapolation sont systématiquement appliqués aux seuils de toxicité expérimentaux retenus. Ils permettent théoriquement de palier les différentes incertitudes, notamment :

- les variations de sensibilité entre les espèces et au sein d'une même espèce ;
- les effets indirects qui désignent le fait qu'un organisme est impacté non directement par le toxique mais parce que les organismes avec lesquels il interagit le sont (ses proies ou ses prédateurs par exemple), ce qui perturbe le fonctionnement écologique du système ;
- l'extrapolation de la toxicité à court terme vers la toxicité chronique en l'absence de données expérimentales de toxicité chronique ;
- l'influence des conditions environnementales sur la toxicité de la substance.

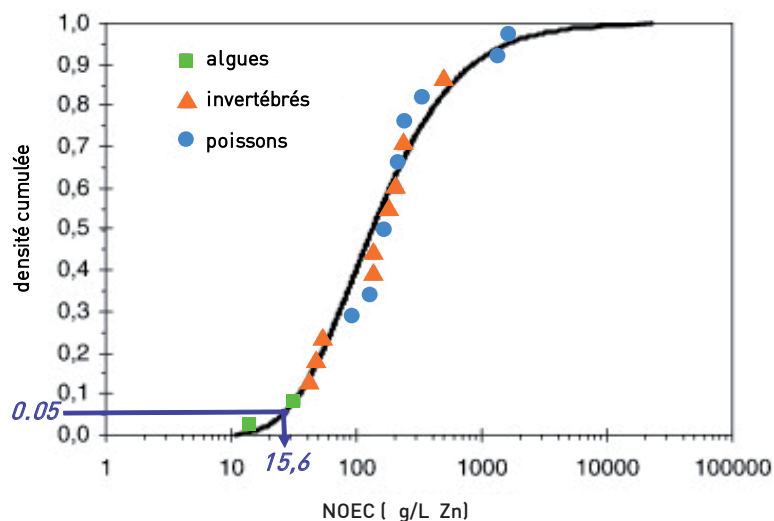


Figure 4 : Un ensemble de 19 données de toxicité chronique du zinc (Zn) pour différentes espèces aquatiques a été compilé pour permettre une évaluation de la distribution de sensibilité des espèces. Pour une concentration donnée, la « densité cumulée » représente le pourcentage d'espèces susceptibles d'être affectées. La courbe de distribution de sensibilité associée permet l'évaluation d'un seuil de référence de 15,6 µg/l à partir de la valeur statistique à 5 %.

Les facteurs d'extrapolation sont définis en fonction de l'abondance et la nature des données disponibles : moins il existe d'informations sur la dangerosité de la substance, plus l'incertitude et le facteur d'extrapolation sont élevés. Cette méthode peut ainsi conduire à des PNEC préventives très faibles pour les

substances dont la dangerosité est très peu évaluée. À l'inverse, toute amélioration de la connaissance sur la toxicité des contaminants conduit à une diminution des facteurs d'extrapolation.

Information disponible	Facteur d'extrapolation
Au moins un test de toxicité aiguë pour chacun des trois niveaux trophiques (CE ₅₀ sur poissons, daphnies*, algues)	1000
Un test de toxicité à long terme (NOEC sur daphnies ou poissons)	100
Deux tests de toxicité à long terme (NOEC) pour des espèces représentant deux niveaux trophiques (poissons et/ou daphnies et/ou algues)	50
Trois tests de toxicité à long terme (NOEC) pour des espèces représentant trois niveaux trophiques (poissons, daphnies, algues)	10
Méthode de distribution statistique des sensibilités des espèces (au moins 15 valeurs de toxicité chroniques pour des espèces appartenant à au moins 8 groupes taxonomiques différents)	5-1 à justifier au cas par cas
Études en mésocosme* ou de terrain	au cas par cas

Tableau 1 : Méthode de détermination des facteurs d'extrapolation pour l'estimation des normes de qualité (TGD, 2003).

DÉFINITION DES NQE

La stratégie de lutte contre la pollution chimique définie dans la directive cadre sur l'eau (DCE) se concentre sur une liste restreinte de substances ou groupes de substances considérés comme prioritaires. Une première liste a été définie lors de la rédaction de la DCE en 2000, révisable tous les quatre ans. Des critères de qualité appelés normes de qualité environnementales (NQE) sont fixés. Pour chaque substance, la NQE est une valeur-seuil que la concentration mesurée dans le milieu aquatique ne doit pas dépasser pour garantir la protection de la santé humaine et de l'environnement.

La NQE a donc deux composantes :

- une composante environnementale qui permet de protéger les organismes du milieu aquatique d'un effet toxique direct ou par empoisonnement secondaire (ingestion de nourriture contaminée);
- une composante sanitaire qui permet de protéger la santé humaine de la toxicité des substances sur l'eau brute destinée à la consommation humaine ou d'un empoisonnement secondaire par consommation d'organismes éventuellement contaminés.

Ainsi, pour chaque substance, des NQE-MA (moyenne annuelle) et NQE-CMA (maximum admissible) ont été définies. Leur définition s'appuie sur l'estimation des PNEC décrite ci-dessus, en l'appliquant au milieu aquatique. Elle correspond à la valeur minimale des différentes valeurs de PNEC observées pour chacun des compartiments étudiés (eau, sédiments, biote* et santé humaine).

Les NQE-CMA ont été établies sur la base de compilation de données de toxicité aiguë, alors que les NQE-MA ont fait l'objet d'une compilation de données de toxicité chronique quand elles étaient disponibles.

Pour certaines substances cependant, et en particulier celles qui s'accumulent dans les organismes ou dans les sédiments, une expertise scientifique supplémentaire doit être apportée. En effet, les mécanismes de contamination par ingestion échappent aux procédures standards d'évaluation des risques qui s'appuient sur des tests de toxicité de laboratoire conduits sur des organismes aquatiques dans des milieux extrêmement simplifiés.

Des modèles d'accumulation dans les chaînes trophiques permettent alors d'établir des NQE dans l'eau à partir des valeurs-guide dans les organismes. Des valeurs-guide de contamination dans les sédiments peuvent être établies à partir des PNEC fournies pour les organismes de la colonne d'eau en utilisant un rapport empirique entre les teneurs en contaminants dans les sédiments et l'eau (un K_D). Enfin, l'établissement des NQE doit également faire référence à d'autres normes existantes, comme celles qui s'appliquent aux eaux destinées à la consommation humaine, si elles sont plus restrictives. Dans ce cas, la NQE pour le milieu aquatique est alignée sur la valeur fixée pour protéger l'homme (même si toutes ces valeurs de précaution ne sont pas nécessairement le résultat d'une évaluation des risques).

Ainsi, en application de la DCE, des NQE-MA et NQE-CMA ont été édictées par la directive fille 2008/105/EC du 16 décembre 2008 pour les 33 substances (ou groupes de substances) prioritaires initialement listées, et pour quelques substances supplémentaires. Le processus se poursuit pour d'autres contaminants, dont certains sont déjà identifiés par la directive fille.

Au-delà des NQE officiellement votées par le Parlement européen, des NQE provisoires sont aussi disponibles pour plus de 100 autres substances qui ont fait l'objet d'évaluations écotoxicologiques approfondies par les états membres.

Le risque écotoxicologique pour le bassin de la Seine

Depuis 20 ans, le PIREN-Seine a réalisé des recherches sur un grand nombre de micropolluants. Les travaux ont consisté à identifier et comprendre l'origine des contaminants et les modalités de leur transfert jusqu'au milieu aquatique, parfois jusqu'au biote, et à en quantifier les flux et les effets.

LES TRAVAUX DU PIREN-SEINE

Les principales familles de contaminants étudiées sont :

- les métaux, notamment le cadmium, le cuivre, le plomb, le zinc, le chrome, le mercure, le nickel ;
- les hydrocarbures aromatique polycycliques (HAP) et les polychlorobiphényles (PCB) qui sont des familles de composés organiques typiques des milieux urbains et industriels (modèles de pollution ancienne). Ils sont très persistants, très peu solubles dans l'eau, et peuvent se stocker dans les sédiments et les graisses animales ;
- les pesticides, d'origine agricole mais aussi urbaine et industrielle (désherbage des voiries, des

voies ferrées) ou domestique (jardinage amateur, traitement des animaux de compagnie) ;

- les contaminants liés aux produits de grande consommation : plastifiants (phtalates, bisphénol A...), retardateurs de flamme présents dans beaucoup de produits d'utilisation courante (PBDE), alkylphénols résultants de la dégradation de certains détergents, acides et sulfonates perfluorés utilisés comme agents anti-salissures... ;
- des résidus de médicaments et produits de diagnostic médical, des cosmétiques.

L'intérêt porté à ces composés et la très grande diversité des molécules à étudier présentes à très faibles doses, contraignent les équipes de recherche à développer de nouvelles capacités analytiques au sein des laboratoires. Les travaux du PIREN-Seine ont permis d'améliorer la connaissance des niveaux de contamination des eaux du bassin de la Seine pour plusieurs catégories de molécules (cf. les autres fascicules du PIREN-Seine). Dans la démarche d'évaluation des risques, ces travaux ont contribué à une meilleure évaluation des expositions et une aide au calcul des valeurs prédictives de contamination (PEC).



Matériel utilisé pour des prélèvements sur le terrain.



COMMENT DÉFINIR UNE NQE : EXEMPLE DU ZINC

Le zinc (Zn) et cinq de ses composés ont été inclus en 1995, à la demande des Pays-Bas, dans la liste des substances mises sur le marché avant 1981 pour lesquelles une réévaluation des risques environnementaux et sanitaires est nécessaire. Ce travail, qui a duré pratiquement dix ans, a été conduit à l'échelle européenne et a jeté les bases de l'évaluation des risques environnementaux pour les métaux essentiels à la vie, en complément de l'approche habituelle décrite dans les guides techniques européens.

Le zinc est un élément naturel, présent dans l'environnement en dehors de toute activité humaine. Il a été proposé de raisonner en termes de « concentration ajoutée » par les activités humaines, ou PNECadd, pour aboutir à la notion de « risque ajouté ». Cette « concentration environnementale ajoutée » calculée est comparée à une « concentration ajoutée sans effet ». Cette dernière doit en toute rigueur être évaluée par des tests de toxicité réalisés en ajoutant le métal dans des échantillons naturels. Ceci implique de connaître ces niveaux naturels (appelés « fond géochimique ») et de savoir les reproduire expérimentalement.

Le zinc est un élément essentiel au bon fonctionnement de la vie mais il peut être toxique à fortes doses. L'évaluation du risque, fondée sur l'estimation d'une concentration ajoutée maximale ne provoquant pas d'effet toxique, exclut le cas où le niveau naturel du zinc, majoré de cette PNECadd serait trop faible pour assurer les besoins de l'écosystème. Il n'est donc pas envisagé d'arbitrer entre les effets toxiques pour certaines espèces et les carences potentielles pour d'autres.

La biodisponibilité du zinc dépend de son environnement. Comme pour la plupart des métaux, elle est réduite par la fixation du zinc sur la matière organique dissoute, ou par la présence de certains ions (calcium, magnésium, protons). Le modèle du ligand biologique* (BLM), dont le développement a accompagné l'instruction du dossier du zinc, a acquis suffisamment de crédit scientifique pour être retenu comme cadre conceptuel et opérationnel de

référence. Des facteurs correctifs (variant de 40 à 100 %) de la concentration d'exposition sont donc calculés et appliqués selon les régions pour prendre en compte la biodisponibilité du zinc.

Le comité scientifique pour les risques sanitaires et environnementaux (SCHER) a cependant émis quelques réserves lors de l'évaluation du dossier en 2007 :

- la biodisponibilité devrait être prise en compte dans les milieux utilisés pour les tests de toxicité, qu'ils soient aigus ou chroniques, ce qui n'est majoritairement pas le cas ;
- le modèle du ligand biologique préconisé pour l'évaluation des normes n'a jamais été validé par des mesures d'effet et de biodisponibilité réalisées *in situ*, mais toujours *ex situ* ;
- les effets sur les communautés, voire les écosystèmes, ne sont pratiquement jamais considérés. L'évaluation des concentrations sans effet repose sur une collection la plus complète possible d'effets directs sur des espèces isolées.

Aujourd'hui, chaque état est en charge de la définition au niveau national des NQE des métaux et des méthodes d'évaluation. La prise en compte de la biodisponibilité est recommandée par l'Union Européenne. La France a retenu pour le moment une procédure simplifiée, pour laquelle la NQE est fonction de l'alcalinité de l'eau uniquement. Les eaux du bassin versant de la Seine étant fortement carbonatées, les NQEadd* sont fixées à 7,8 µg/l de zinc dans l'eau filtrée (circulaire du 7 mai 2007 DCE/23).

Les données du PIREN-Seine montrent que cette valeur est souvent dépassée, en particulier en aval de l'agglomération parisienne ou lors d'événements pluvieux. Au cours d'une campagne destinée au suivi d'un fort épisode de pluie en 2008, des concentrations moyennes de 50 µg/l de zinc dissous ont été observées en Seine, alors que la concentration moyenne dans les eaux rejetées suivies au cours de la même expérimentation était de 150 µg/l. Ces fortes concentrations sont notamment dues au lessivage des toitures et gouttières en zinc qui couvrent encore la plupart des habitations de la région parisienne.

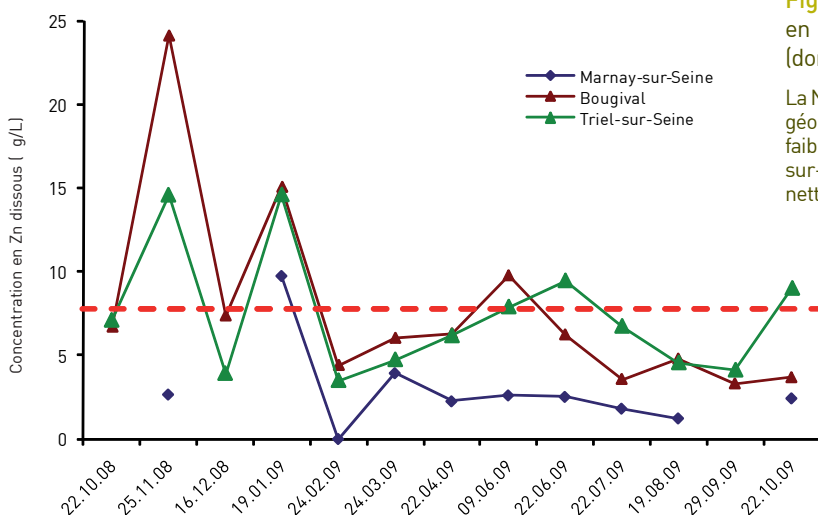


Figure 5 : Suivi sur un an des concentrations en zinc dissous en trois points de la Seine (données du projet MEDISIS).

La NQEadd de 7,8 µg/l est indiquée en rouge. Le fond géochimique en Seine n'a pas encore été défini. Les faibles teneurs le plus souvent observées à Marnay-sur-Seine suggèrent que le fond géochimique est nettement inférieur à 7,8 µg/l.

SITUATION DANS LE BASSIN DE LA SEINE

En application de la DCE, un programme de suivi de la qualité de l'eau a été mis en place dans toute l'Europe. C'est l'Agence de l'eau Seine-Normandie qui est chargée de sa mise en œuvre dans le bassin de la Seine. Plusieurs millions de données sont ainsi produites chaque année dans tous les cours d'eau du bassin. Elles permettent de comparer l'état du milieu aux NQE dans un grand nombre de ses masses d'eau.

Le **tableau 2** compare les NQE-MA d'une partie des

41 substances suivies au titre de la DCE aux valeurs mesurées pour le bassin dans son ensemble. Lorsque le niveau de contamination est faible, ou lorsque la NQE est plus basse que la limite de quantification de certains laboratoires d'analyse, un nombre important de résultats analytiques ne sont guère utilisables et l'évaluation d'une teneur moyenne peut s'avérer peu précise. À titre indicatif, le tableau présente le nombre d'analyses pour lesquelles les limites de quantification sont supérieures aux NQE-MA.

Substance	NQE-MA ¹ (µg/L)	Fext ²	Motif principal de la NQE ³	sup./total ⁴	Nombre d'analyses où LQ > NQE ⁵
Pesticides					
Alachlor	0,3	3	Algues planctoniques	2/9392	
Diuron	0,3	10	Algues planctoniques	133/9516	
Atrazine	0,6	5	Algues planctoniques	4/9450	
Simazine	1	5	Algues planctoniques	2/9393	
Trifluraline	0,03	10	Poissons, algues, crustacés	14/9503	~1800
Isoproturon	0,3	10	Algues planctoniques, végétaux supérieurs	173/9515	
Chlorfenvinphos	0,1	2	Crustacés, insectes	1/9392	
Endosulfan	0,005	10	Poissons	9/11732	~2000
Autres contaminants organiques (résidus de combustion et produits industriels)					
Anthracène	0,1	10	Algues planctoniques, crustacés	1/7328	
Benzo[a]pyrène	0,05	10	Crustacés, algues	119/7327	
Benzo(ghi)pérylène + Indeno-pyrène	0,0026	10 et 100	Poissons	1150/7320 et 2389/7320	sans objet ⁶
Trichloréthylène	10		Production d'eau potable	0/8436	
Métaux					
Plomb	2,3	3	Poissons, organismes fousseurs	351/13656	
Mercure	0,05	3	Mollusques, crustacés, amphibiens	7/13656	~ 8000
Nickel	20		Eau potable	39/13656	
Cadmium	0,25	2	Poissons, crustacés, algues planctoniques	15/13656	~ 8000
Tributylétain	0,0002	4	Mollusques, poissons, crustacés	177/6813	~1500

Tableau 2 : Nombre de dépassements de la NQE-MA pour quelques substances inscrites à la directive 2008/105/EC. Les données utilisées couvrent la période 2006-2009.

¹ NQE-MA, selon la directive 2008/105/EC.

² Facteur d'extrapolation utilisé pour établir la PNEC. Un facteur inférieur à 10 signifie qu'un nombre important de données fiables de toxicité pour de nombreux types d'espèces aquatiques a pu être utilisé pour définir la PNEC. Un facteur supérieur ou égal à 10 indique au contraire que des données écototoxicologiques doivent encore être produites en laboratoire pour affiner la valeur de la PNEC.

³ En général la NQE a été fixée d'après l'exercice de calcul des PNEC. Cette colonne donne le groupe d'espèces le plus sensible et qui a donc motivé la NQE.

⁴ Nombre de valeurs supérieures à la NQE-MA sur le nombre total de mesures effectuées dans le bassin de la Seine.

⁵ Malgré les progrès de l'analyse motivés par la nécessité de pouvoir mesurer la NQE, certaines limites de quantification n'ont pas encore atteint la valeur imposée par la NQE. C'est le cas notamment des deux HAP lourds, le benzo(ghi)pérylène et l'indéno-pyrène. Pour les autres substances, les limites de quantification qui n'étaient pas encore satisfaisantes en 2006 le sont devenues après 2008. Cette colonne présente le nombre d'analyses pour lesquelles on ne peut pas conclure si les NQE-MA sont atteintes ou pas, car la limite de quantification pour cette analyse est supérieure à la NQE.

⁶ La directive de 2008 donne une NQE-MA pour la somme de ces deux substances, alors que les limites de quantification sont définies pour chacune des deux substances, la comparaison n'est donc pas possible.

Quelques cas particuliers doivent être commentés. Dans le cas du plomb, par exemple, beaucoup de valeurs en excès ont été mesurées dans l'estuaire. Le plomb est un métal connu des géochimistes pour son affinité pour les particules, y compris les colloïdes*. Il est donc possible que les fortes valeurs mesurées soient dues à de fortes teneurs en colloïdes et matières en suspension, phénomène naturel identifié dans l'estuaire. Le même type de phénomène pourrait expliquer les fortes concentrations de certains HAP. Les HAP les plus lourds sont connus pour se fixer sur les matières organiques colloïdales ; les travaux des chercheurs du PIREN-Seine l'ont confirmé dans la Seine à l'aval de Paris et dans la Marne, où les concentrations de HAP lourds non-colloïdaux sont cinq fois plus faibles que les concentrations dissoutes totales des mêmes HAP dans l'eau. L'application des NQE, que les analyses soient faites sur échantillon total ou sur eau filtrée, ne tient pas compte de ces particularités liées à la forte affinité de certaines substances pour les colloïdes, les matières organiques ou les matières en suspension. La plupart des HAP colloïdaux ne seront pas capables de traverser les branchies des organismes aquatiques, mais pourront éventuellement être accumulés par d'autres voies.

Comme l'illustre le tableau, les phénomènes de toxicité à la base de l'établissement des PNEC et des NQE couvrent tous les types d'espèces aquatiques, depuis les algues et les végétaux supérieurs pour les herbicides jusqu'aux crustacés et aux poissons pour les insecticides. Les autres familles de contaminants listés (organiques et métalliques) ont également un spectre large de types d'espèces potentiellement les plus impactées.

Pour deux des substances citées c'est la production d'eau potable qui a été le critère retenu. Dans le cas du nickel, les études de toxicité entreprises sous l'égide de l'European Chemical Bureau suggèrent une norme de qualité environnementale de 3,8 µg/L, tenant compte d'une PNEC de 1,7 µg/L et d'un bruit de fond naturel moyen de 2,1 µg/L (voir encadré sur le zinc). Des résultats plus récents suggèrent que, dans le bassin de la Seine, la PNEC pourrait être augmentée jusqu'à environ 4 µg/L pour tenir compte de la dureté de l'eau. Le processus de définition des NQE est un processus itératif, le législateur n'a pas été suffisamment convaincu par les résultats présentés au cours de la préparation de la directive de 2008. Il est probable que la NQE de 20 µg/L pour le nickel soit prochainement revue à la baisse. Avec une NQE de 3,8 µg/L, le nombre de dépassements de la NQE-MA dans le bassin de la Seine serait de 551/13656 au lieu de 39/13656, ce qui reste limité.

LES DÉFAUTS DE L'APPROCHE PAR LES NQE

Plusieurs éléments complémentaires militent pour qu'une analyse plus approfondie que celle fondée sur les NQE soit également développée.

Les réponses biologiques mesurées dans les tests écotoxicologiques réalisés au laboratoire demeurent limitées. Il s'agit en pratique de la mortalité ou de l'immobilisation pour des tests aigus, de la croissance de la population ou reproduction pour des tests chroniques. Les effets génotoxiques, endocriniens ou immunotoxiques ne sont probablement pris en compte que d'une manière très limitée dans les essais de croissance ou de reproduction.

L'effet « cocktail » dû à la présence simultanée de nombreux contaminants est complètement ignoré du fait que l'approche par substance soit à la base de l'établissement des NQE. Deux substances agissant sur les mêmes récepteurs n'ont-elles pas un effet cumulatif ? Deux substances n'agissant pas sur les mêmes récepteurs doivent-elles être considérées comme indépendantes dans leurs effets, ou l'affaiblissement de l'organisme lié à la première substance le rend-il plus vulnérable à la seconde, ou encore à d'autres risques dont le parasitisme ?

L'effet écotoxicologique des toxiques sur les populations présentes dans le milieu est aujourd'hui très peu évalué. Il est possible que la présence de contaminants à des doses plus faibles que les NQE affecte suffisamment certains organismes pour que la structure des populations et de l'écosystème en soit modifiée. L'évaluation de ces modifications est désormais menée, notamment grâce au suivi de la qualité biologique des cours d'eau. Cependant, il n'est pas encore possible, dans l'état actuel des connaissances, d'évaluer l'importance de la présence de contaminants à très faibles doses sur les altérations de la qualité biologique.

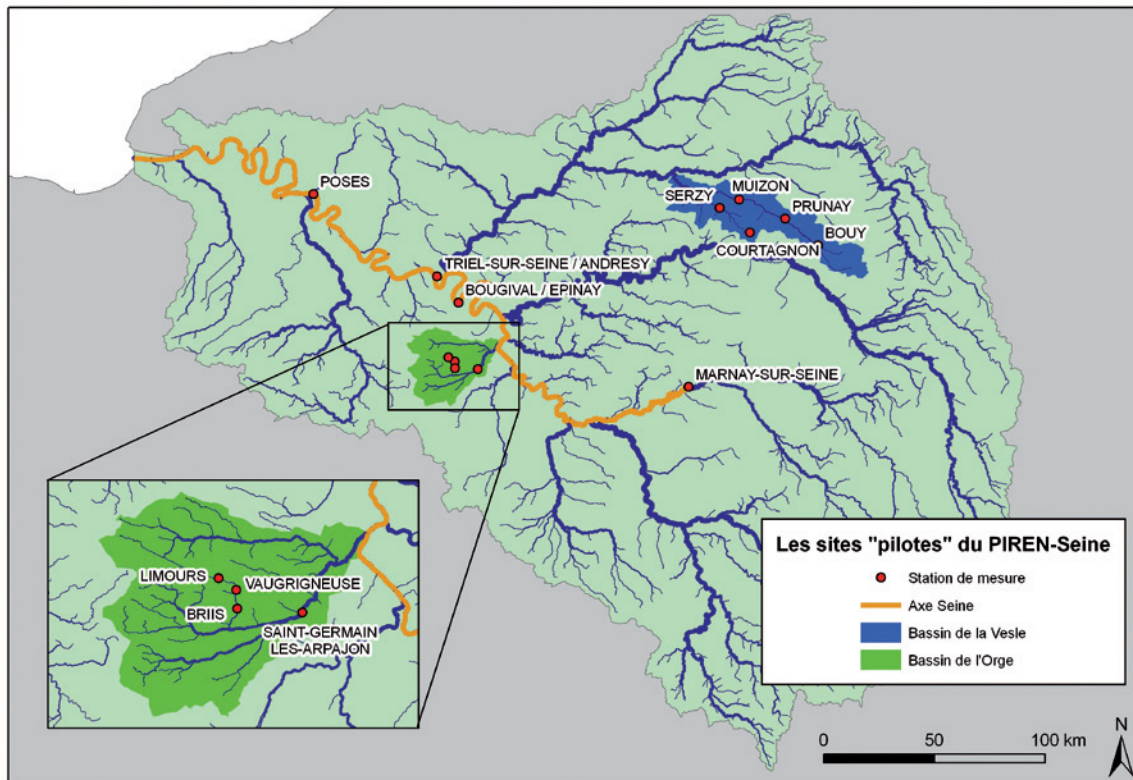
Ainsi, malgré les progrès considérables qu'elle a suscités pour l'évaluation du risque écotoxicologique dans les systèmes aquatiques européens, l'approche par les NQE qui fait aujourd'hui partie des outils réglementaires du suivi de la qualité des eaux, ne saurait constituer une évaluation complète de l'état des problèmes écotoxicologiques dans un milieu. Un travail *in situ* d'évaluation, non plus seulement des concentrations de contaminants mais aussi des effets mesurables sur les organismes, paraît indispensable.

DES SITES « PILOTES » AU PIREN-SEINE

Les activités de recherche du PIREN-Seine s'organisent autour de sites communs, représentatifs de cours d'eau sous influence marquée. Des travaux pluridisciplinaires sont entrepris sur ces sites de façon à mutualiser les approches et confronter les résultats.

Les équipes d'écotoxicologie, d'écologie et de chimie du PIREN-Seine se sont focalisées sur l'étude de trois sites pilotes :

- **le bassin de l'Orge** est un modèle de petite rivière sous pression urbaine ancienne. Dans sa partie aval, l'Orge reçoit les eaux de ruissellement d'un bassin versant largement urbain ;
- **le bassin de la Vesle**, affluent de l'Oise, est soumis à une contamination agricole intense, à laquelle est associée dans la zone aval la pression urbaine de l'agglomération de Reims ;
- **l'axe Seine**, depuis l'amont de la confluence avec l'Yonne, jusqu'au début de l'estuaire à Poses, est le reflet intégré de la pression de l'agglomération, une zone urbaine étendue et très ancienne.



Carte 1 : Localisation des principaux sites d'études du PIREN-Seine.



le potentiel toxique en laboratoire

Les analyses chimiques sont insuffisantes pour évaluer le risque toxique dans un milieu. Les bio-essais réalisés en laboratoire permettent de pallier ce manque. Regroupant un ensemble très vaste d'essais, ils permettent notamment de caractériser la présence des perturbateurs endocriniens et la génotoxicité des masses d'eau.



Le principe des bio-essais

Les analyses chimiques réalisées sur un échantillon d'eau sont difficiles à interpréter, d'autant plus que le nombre de nouvelles substances identifiées dans l'eau augmente sans cesse avec les progrès de l'analyse chimique, mais que leur liste n'est jamais exhaustive. Pour pallier ces difficultés, il est indispensable de procéder à des bio-essais en laboratoire destinés à mesurer les effets biologiques de la présence de composés toxiques dans un échantillon. La mesure associée à l'échantillon correspond à la quantification d'un effet biologique et non plus à la concentration en une ou plusieurs substances chimiques.

Les bio-essais en laboratoire consistent à évaluer l'interaction d'une molécule, d'un groupe de molécules, ou d'un mélange complexe (eau brute, extrait d'échantillon d'eau ou de sédiment concentré) sur le fonctionnement d'éléments biologiques. Ils peuvent être menés sur des organes isolés, des fragments d'organes, des cellules en survie ou en culture, des micro-organismes voire des larves d'animaux. Ces organismes peuvent avoir été génétiquement modifiés pour exprimer une réponse spécifique de l'effet toxique recherché. Le matériel vivant sur lequel est pratiqué l'essai est qualifié de « modèle » (animal, végétal, cellulaire...). Les molécules, ou mélanges de molécules, sont mises au contact des matériels biologiques, directement ou via des solvants dont l'innocuité vis-à-vis de la réponse de l'essai a été vérifiée. Les mesures peuvent être qualitatives (réponse tout ou rien, présence/absence) ou quantitatives (mesure de l'intensité de la réponse). La réponse engendrée est comparée à celle induite par un toxique ou une molécule de référence, naturelle ou de synthèse.

Les bio-essais regroupent un ensemble très vaste d'essais, depuis l'évaluation de la toxicité aiguë sur zooplancton, bactéries ou algues, jusqu'à des essais sur des cellules en culture génétiquement modifiées. Certains sont normalisés et utilisés depuis de nombreuses années en laboratoire. Des kits sont proposés (Microtox, AlgaltoxKit, MARA...) qui permettent une utilisation miniaturée et relativement simple.

Ces essais présentent de nombreux avantages : leur sensibilité est grande, les réponses possibles sont très diverses et décrivent avec précision des mécanismes toxiques. Ils sont rapides à mettre en place et aisément automatisables.

Les bio-essais ont été développés pour étudier la toxicité de substances en laboratoire. Leur application sur des échantillons environnementaux (effluents ou milieux) s'est développée pour l'évaluation du risque écotoxique des masses d'eau. Les essais sont menés sur les échantillons bruts ou des extraits concentrés d'eau, de particules, ou de sédiments.

L'interprétation des résultats des bio-essais, menés au niveau du laboratoire, doit être strictement limitée à la réponse spécifique de l'essai pour laquelle il a été construit.

Plusieurs points doivent ainsi être soulignés :

- ces essais sont généralement spécifiques d'un type de toxicité (perturbation endocrine, génotoxicité...), et à un groupe d'espèces (bactéries, invertébrés, cellules de mammifères...). En conséquence, les réponses observées sur des tissus, ne peuvent pas être extrapolées à un organisme entier, ou celles observées sur un organisme de laboratoire à l'ensemble des espèces ;
- les essais ne permettent pas de rechercher des familles de contaminants, mais leurs capacités ou celles de l'échantillon d'eau pris dans leur ensemble à induire une réponse biologique. De la même façon qu'il est nécessaire de rechercher plusieurs familles de molécules, une batterie d'essais est indispensable pour mesurer les différents types de toxicité d'un échantillon et les différentes classes d'espèce cibles ;
- les extrapolations directes des résultats à l'impact d'un milieu sur un organisme vivant ne sont pas acceptables, car l'exposition des organismes dans les bio-essais menés en laboratoire n'est pas représentative de l'exposition des organismes du milieu.

Les applications aux eaux du bassin de la Seine

De manière très synthétique, les principaux types d'effets mesurés par les bio-essais en laboratoire concernent la toxicité aiguë, les effets perturbateurs endocriniens et les effets génotoxiques. Certains essais ont été utilisés pour évaluer la toxicité des milieux aquatiques du bassin versant de la Seine, en routine ou au cours de programmes de recherche.

En voici quelques exemples....

LE PARAMÈTRE «MATIÈRES INHIBITRICES» DE LA REDEVANCE DES AGENCES DE L'EAU

Au milieu des années 1970, la mise en œuvre par les agences de bassin de programmes de lutte contre la pollution toxique de l'eau s'est appuyée sur un nouveau paramètre de redevance, les « matières inhibitrices » (MI), fondé sur le résultat d'un biotest appliqué aux effluents industriels et urbains et permettant d'appréhender globalement, à travers des effets biologiques quantifiables, une large gamme de toxiques (minéraux ou organiques) aux effets aigus. Le test Daphnie 24 h (norme NF EN ISO 6341 depuis 1982) a été choisi pour une sensibilité, une discriminance et une reproductibilité adéquates ainsi que pour sa bonne représentativité écologique et sa relative simplicité de mise en œuvre.

Le test Daphnie est un test de toxicité aiguë. Il consiste à exposer des daphnies à diverses dilutions d'un effluent et à observer au bout de 24 h le taux d'inhibition de leur mobilité. La concentration de l'effluent (en %) induisant en 24 h l'immobilisation de la moitié des individus exposés (CI_{50} -24h) est caractéristique du potentiel toxique aigu de l'effluent.

La dilution correspondante, soit $100/CI_{50}$ -24h, représente la quantité de MI, exprimée en équitox (eqt), contenue par convention dans 1 m³ d'effluent. On peut ainsi calculer un « flux toxique » en multipliant cette quantité par un débit d'effluent.

Des « niveaux théoriques de pollution » en MI ont été déterminés par type d'activité polluante (produit brut avant traitement). Ainsi le décapage de l'acier représente 150 eqt/t d'acier décapé, le blanchissage industriel 500 eqt/t de linge lavé, le revêtement de surface au cuivre chimique 4 500 000 eqt/t de cuivre acheté. En matière de pollution domestique, un habitant représente 0,2 eqt/j de pollution brute théorique à traiter.

Le graphique de la figure 6 donne l'évolution sur les quinze dernières années des flux totaux de MI rejetés (assiette nette de redevance) par les industries du bassin Seine-Normandie (rejets directs au milieu et rejets aux réseaux d'assainissement urbain). Les efforts consentis ont permis de diviser ces flux respectivement par 3,5 et 4 en 15 ans.

Dans les années 1990, a émergé la préoccupation des pollutions toxiques à long terme, non mesurables avec le test Daphnies aigu. Le choix d'un bio-essai n'a pas été retenu et ce sont deux paramètres chimiques, liés directement aux principaux polluants en cause, les métaux « lourds » et les solvants halogénés, qui ont été créés (metox et AOX). Mais les objectifs actuels de reconquête et de préservation du « bon état » des eaux exigent d'intensifier la lutte contre les pollutions toxiques à long terme, sur une gamme beaucoup plus étendue de substances. Un nouvel instrument d'incitation financière est à l'étude. L'une des pistes d'investigation est à nouveau le recours aux bio-essais.

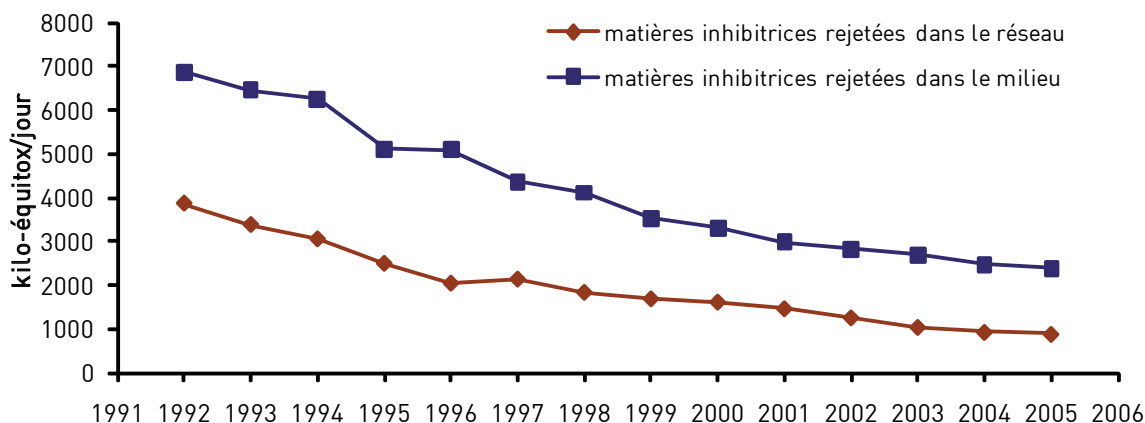


Figure 6 : Évolution des flux totaux de matières inhibitrices rejetées (assiette nette de redevance) dans le réseau ou dans le milieu par les industries du bassin Seine-Normandie.

LA CARACTÉRISATION DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

Un perturbateur endocrinien (PE) est susceptible d'interférer avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles. Aucun essai *in vitro* n'est donc capable à lui seul d'évaluer en même temps toutes ces perturbations possibles. En effet, les molécules en cause sont multiples et les cibles nombreuses.

Les hormones engendrent la majorité de leurs effets par l'induction de la transcription de gènes cibles. La majorité des bio-essais *in vitro* développés pour évaluer le potentiel de perturbation endocrinienne explorent cette cible d'action. Réalisés sur des cultures de cellules mammifères ou des levures, ces bio-essais intègrent une réponse globale de la cellule et permettent une mesure directe des perturbations de la transcription des récepteurs aux hormones. Des larves d'animaux transgéniques (batraciens ou poissons) sont également employées et se situent à l'interface entre les essais *in vitro* et *in vivo*. Le principe est le suivant : des cellules sont transfectées avec un plasmide* permettant l'expression d'un gène rapporteur placé sous le contrôle d'un élément de réponse du récepteur nucléaire au ligand naturel hormonal. Le gène rapporteur code pour une enzyme facile à doser. L'interaction avec le récepteur se traduit par la production de cette enzyme révélée par une réaction de luminescence. Les effets agonistes* d'une molécule ou d'un mélange de molécules sont évalués en absence

du ligand naturel du récepteur (l'hormone naturelle), alors que les effets antagonistes ou de synergie et d'additivité sont mesurés en sa présence. La réponse observée est exprimée en concentration équivalente en hormone à partir de la courbe dose-réponse obtenue avec l'hormone naturelle, par exemple : nanogramme d'équivalents-estradiol par litre d'eau.

Des bio-essais de ce type ont été utilisés dans le cadre de travaux du PIREN-Seine, notamment lors d'une campagne sur le bassin de l'Orge en 2007. Les potentiels perturbateurs estrogéniques, androgéniques et thyroïdiens d'extraits d'eau ont été évalués sur des cellules mammifères génétiquement modifiées : les cellules MELN (INSERM, U540, Montpellier) pour les mesures de perturbation estrogénique, et PC-DR-LUC (université Paris sud 11, UMR 8079) pour les mesures de perturbation thyroïdienne. Des cellules de levure génétiquement modifiées ont été également employées pour mesurer les perturbations estrogéniques (YES «*yeast estrogen screen*») et androgénique (YAS «*yeast androgen screen*») des extraits de sédiments. Des analyses chimiques ont permis le dosage des principales hormones estrogéniques naturelles et l'hormone synthétique (éthynylestradiol) dans les mêmes extraits d'eau (figure 7 et tableau 3).

Une relation entre les valeurs d'activité estrogénique exprimées en g d'équivalents de β -estradiol par litre d'eau (TEqBiol) mesurées par l'essai sur cellules MELN et celles calculées à partir des concentrations totales en hormones analysées par chromatographie (TEqChim) a été observée pour la majorité des sites. D'autres contaminants peuvent également contribuer aux effets observés.

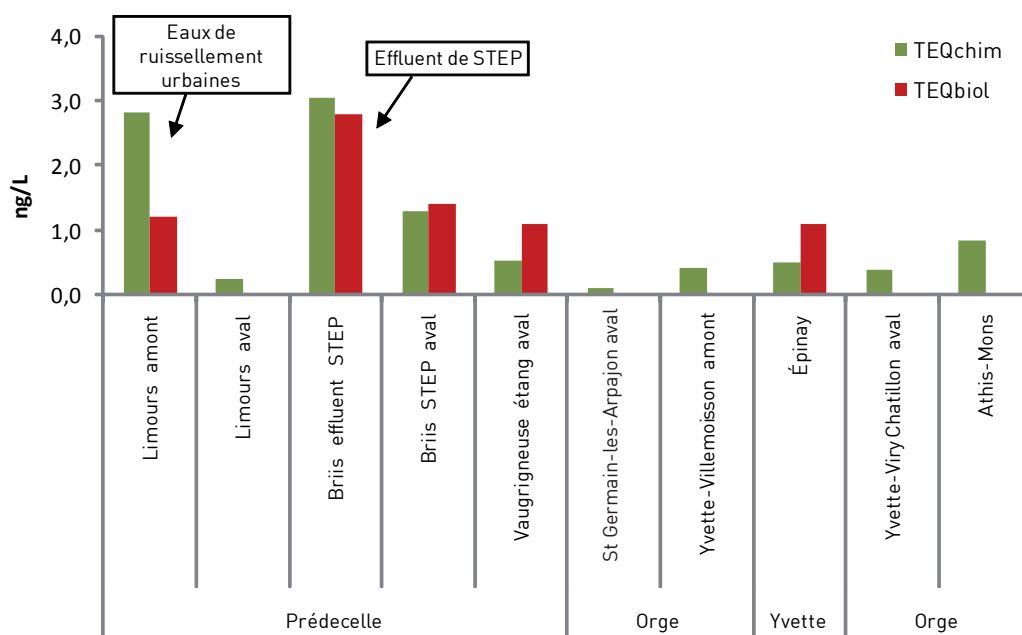


Figure 7 : Comparaison des effets estrogéniques totaux observés (TEq Biol exprimés en ng d'équivalents-estradiol par litre d'eau) et des effets calculés en quelques hormones naturelles et synthétiques analysées par chromatographie (TEq Chim) sur des extraits d'eaux prélevées le long de la Prédecelle, l'Orge et l'Yvette.

TEq Chim correspond à l'activité théorique globale de l'échantillon calculée à partir de la concentration des estrogènes analysés multipliée par l'activité relative de chacune des molécules sur le récepteur par rapport à l'estradiol qui est le ligand de référence au récepteur (Miège et al, 2009).

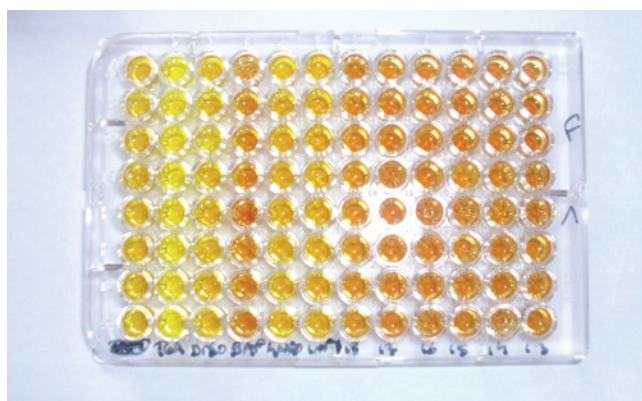
MESURER

La combinaison des analyses chimiques et des bio-essais (MELN et YES) pour caractériser le potentiel perturbateur endocrinien d'échantillons met en évidence une contamination relativement forte de l'eau et des sédiments de la Prédecelle. En aval de l'Orge, l'activité de perturbation estrogénomimétique de l'eau reste relativement faible bien que l'analyse chimique permette une mesure des œstrogènes. En revanche, l'activité de perturbation estrogénique des sédiments augmente en aval de l'Orge, probablement parce qu'une partie des composés perturbateurs amenés à la rivière par les activités urbaines en aval est concentrée dans les sédiments.

Notons qu'au cours de cette même campagne, aucun potentiel perturbateur thyroïdien de l'eau n'a été mis en évidence sur cellules PC-DR-LUC. Aucun potentiel de perturbation androgénique ou anti-androgénique des sédiments collectés sur ces sites n'a été observé (test YAS).

Rivière	Sites	Activité estrogénique (ng E2TEQ/g PS)	Activité androgénique (ng TesTEq/g PS)	Activité anti-androgénique (µg FluTEq/g PS)
Prédecelle	Limours amont	< L.D.	< L.D.	< L.D.
	Limours aval	0,08	< L.D.	< L.D.
	Briis effluent de STEP	0,01	< L.D.	0,62
	Vaugrigneuse étang aval	0,42	< L.D.	< L.D.
Orge	St Germain-les-Arpajon	0,08	< L.D.	< L.D.
	Villemoisson	0,42	< L.D.	< L.D.
Yvette	Épinay	0,08	< L.D.	0,5
Orge	Athis-Mons	1,83	< L.D.	< L.D.

Tableau 3 : Activités estrogéniques, androgéniques et anti-androgéniques mesurées par les essais YES et YAS des extraits de sédiments prélevés lors de la campagne d'échantillonnage sur le bassin de l'Orge en 2007. Les résultats sont exprimés en ng ou µg d'équivalents-œstradiol (E2TEq), testostérone (TesTEq) ou flutamide (FluTEq) par gramme de poids sec de sédiment (PS). (< L.D. = inférieur à la limite de détection).



Micro-plaque utilisée pour le test de génotoxicité Umu.

LA GÉNOTOXICITÉ DES MASSES D'EAU

Les principaux types d'essais de génotoxicité permettent de mesurer l'induction de mutations, les cassures de l'ADN, le déclenchement de mécanismes de réparation. Certaines molécules présentent des propriétés génotoxiques après « activation » par des extraits de cellules de foie qui les métabolisent en les rendant actives. Les essais sont donc souvent réalisés avec et sans ces extraits afin de garantir la plus large gamme de mesures possible.

L'essai le plus ancien et le plus utilisé est celui élaboré par Ames (ou « test d'Ames »). Celui-ci permet de mesurer le taux de mutations induites par un contaminant chimique. Plus simple de mise en œuvre, le test Umu est basé sur la mesure de la réparation de l'ADN. L'organisme modèle est une souche bactérienne modifiée qui possède l'opéron d'un gène de réparation de l'ADN (réparation SOS) couplé à un gène codant pour une enzyme, la β -galactosidase. En présence de composé génotoxique, le système SOS est activé, ce qui induit une production de β -galactosidase

facilement mesurable par colorimétrie. Comme pour le test d'Ames, plusieurs souches bactériennes sont utilisées selon le type de lésion de l'ADN recherché. Ces essais ont été déployés dans l'estuaire de la Seine, notamment au cours des différentes études du programme de recherche Seine-Aval, où le caractère génotoxique et mutagène du milieu a été mis en évidence (figure 8).

Les résultats montrent que la génotoxicité des sédiments dans l'estuaire provient au moins en partie des contaminants génotoxiques amenés par le fleuve. Il paraît important de mieux les appréhender pour en évaluer le risque pour le milieu fluvial et pour l'estuaire. Ce travail constituera un des volets des prochains travaux des équipes du PIREN-Seine.

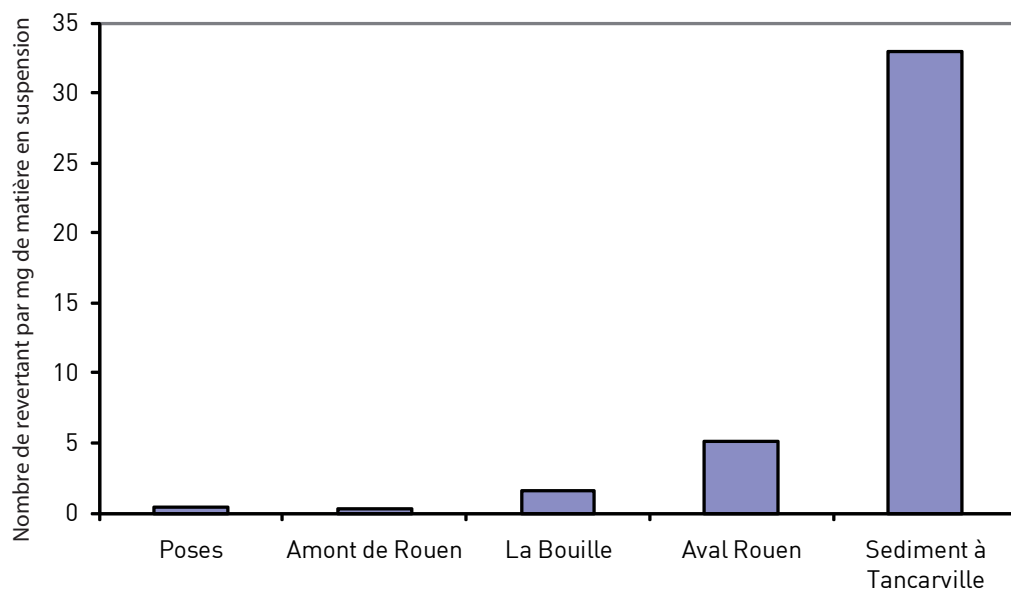


Figure 8 : Résultats du test d'Ames appliqué à des extraits de matières en suspension et de sédiments prélevés dans l'estuaire de la Seine. Les données représentent le nombre de colonies de bactéries mutées suite au traitement par des matières en suspension provenant de l'eau de Seine sélectif (Vincent-Hubert et al., soumis).

l'évaluation de l'exposition aux micropolluants



Les programmes de surveillance de la qualité chimique des masses d'eau demandés par la DCE sont basés sur des mesures ponctuelles de concentrations de contaminants. Ces mesures sont sujettes aux difficultés analytiques inhérentes à l'analyse de faibles traces dans le milieu et ne prennent pas en compte la variabilité temporelle d'une contamination. Leur capacité à rendre compte du risque écotoxicologique est très faible. Pour améliorer la caractérisation écotoxicologique de l'eau, plusieurs pistes sont proposées : l'évaluation des concentrations biodisponibles plutôt que des concentrations totales dans le milieu, notamment par l'utilisation de l'échantillonnage passif, et le suivi des contaminants dans le biote (bioaccumulation).



Donner un sens écotoxicologique à la mesure

La biodisponibilité d'un contaminant désigne sa capacité à pénétrer dans un organisme et atteindre des organes ou cellules en franchissant les différentes barrières. Elle peut être différente selon la structure chimique des micropolluants, en fonction de leur comportement dans le milieu où ils peuvent prendre

différentes formes chimiques, et selon l'organisme-cible. Un point crucial pour l'évaluation correcte du risque écotoxicologique réside dans l'aptitude à prédire, non pas la concentration totale dans un milieu, mais surtout la concentration biodisponible de ces micropolluants.

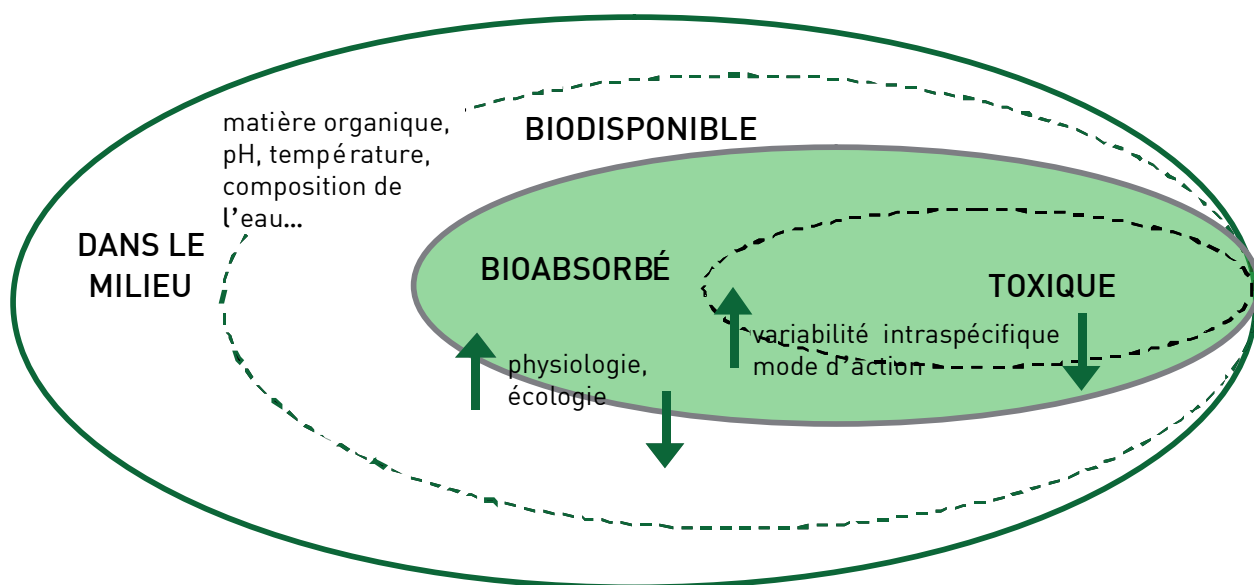


Figure 9 : Relation schématique entre la présence d'un contaminant dans le milieu, sa biodisponibilité, son absorption* dans l'organisme et sa toxicité.

L'estimation de la fraction biodisponible est difficile, puisqu'elle dépend à la fois de la structure chimique du contaminant, de l'environnement et des organismes exposés. Elle peut être estimée soit par une mesure chimique, soit au travers d'une réponse biologique si la concentration atteinte induit un effet mesurable.

- **La mesure physico-chimique** de la biodisponibilité consiste à doser les contaminants dans les différents compartiments de l'environnement (phase dissoute, particulaire, répartition selon la nature et/ou la taille des particules). Elle s'accompagne d'une hypothèse sur la forme chimique la plus favorable à la biodisponibilité. Selon la forme chimique prise en compte pour estimer la fraction biodisponible, ce type de mesure permet de différencier la biodisponibilité via l'ingestion et la biodisponibilité de contact (absorption directe dans les tissus, respiration). Ce type de mesure doit être validé au préalable par une analyse comparée des fractions biodisponibles estimées biologiquement et chimiquement. Toutefois, certaines séparations

physico-chimiques ne sont pas facilement praticables, en particulier lorsqu'il s'agit de différencier les formes colloïdales et les formes dissoutes libres.

- **La mesure biologique** consiste à mesurer un effet (biochimique, physiologique, toxique) induit par le polluant sur un organisme ou une population ou une communauté. La réaction biologique est directement reliée aux contaminants biodisponibles et non aux contaminants totaux. Cette mesure est la plus pertinente d'un point de vue écologique, car elle intègre tous les paramètres biologiques qui peuvent influencer la biodisponibilité. En particulier, les différentes voies d'accumulation des polluants dans l'organisme sont prises en compte, mais non différenciées. Les différences de résistance à un polluant entre individus sont aussi intégrées. L'observation d'une réponse biologique s'accompagne souvent d'une variabilité accrue liée en particulier aux facteurs biologiques (physiologie, réponse interne).

BIODISPONIBILITÉ DES MÉTAUX DANS L'EAU

La biodisponibilité des métaux en milieu aquatique est étudiée depuis une trentaine d'années. De nombreuses expériences menées en laboratoire ont ainsi montré que le paramètre explicatif de l'effet biologique induit par les métaux était généralement non pas la quantité totale de métal en solution, mais la quantité de métal ionisé (ou libre). Ces observations ont conduit à la formulation du modèle de l'ion libre, ou *free-ion model* dans les années 80. La principale hypothèse est que l'effet biologique est proportionnel au nombre de sites chimiques actifs de l'organisme occupé par le métal, supposé en équilibre avec les autres ligands en solution. Par extension, le modèle du ligand biologique* (*biotic ligand model*, BLM) permet de prédire la toxicité pour les organismes de la colonne d'eau en tenant compte des autres ligands présents, organiques ou non, et de la composition de l'eau (compétitions de l'ion métallique avec Ca^{2+} , Mg^{2+} ...).

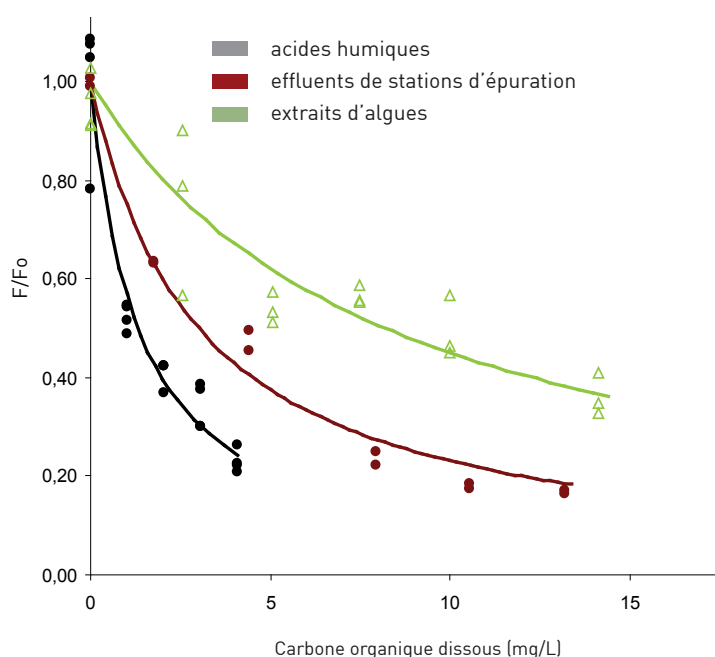
Le modèle de l'ion libre souffre de quelques exceptions notables, comme celle du mercure pour lequel la forme disponible est la forme méthylée qui se concentre dans les tissus. En revanche, il permet de rendre compte de nombreuses observations, comme la faible toxicité des rejets de station d'épuration ou encore celles des surverses de réseau unitaire. Dans ces deux derniers cas, les matières organiques d'origine urbaine ou naturellement produites dans les cours d'eau se révèlent très efficaces pour former des complexes* avec certains métaux et diminuer ainsi la concentration en métal biodisponible, parfois de plusieurs ordres de grandeur.

BIODISPONIBILITÉ DES CONTAMINANTS ORGANIQUES

La matière organique (MO) des milieux aquatiques a généralement une grande capacité d'adsorption* des contaminants organiques hydrophobes*, ce qui influence leur biodisponibilité. Elle peut piéger ces contaminants et les rendre indisponibles pour les organismes vivants. Ce phénomène est surtout observé en présence de matière organique dissoute*, pour des organismes dont la principale voie de contamination est la respiration branchiale. L'hypothèse sous-jacente est que les micropolluants associés à la MO forment des complexes peu adaptés pour pouvoir traverser la membrane biologique ; ainsi seuls les contaminants organiques dissous libres restent biodisponibles pour les organismes. Ce modèle pourrait s'appeler « modèle du micropolluant organique libre ». La capacité protectrice de la MO dépend de ses caractéristiques propres : hydrophobie, taille des particules, biodégradabilité... D'autre part, si la MO joue un rôle fondamental dans le contrôle de la biodisponibilité, les caractéristiques chimiques de l'eau telles que le pH ou la force ionique influencent peu la biodisponibilité des contaminants organiques hydrophobes. Ces derniers auront surtout un impact direct sur la physiologie des organismes.

Figure 10 : Bioaccumulation de benzo[a]pyrène dans des daphnies en présence de plusieurs types de matière organique dissoute. La bioaccumulation est notée en relatif par rapport au milieu sans matière organique.

L'importance du rôle protecteur de la matière organique dissoute dépend de sa nature. Elle peut être considérable (plus de 70 % de diminution du benzo[a]pyrène pour une teneur de seulement 4 mg/L d'acides humiques dissous dans l'eau) (Gourlay, 2004).



Le rapport entre la MO et la biodisponibilité n'est cependant pas univoque. Si la MO peut être facilement absorbée par les organismes par ingestion, lorsqu'il s'agit de leur nourriture, sa capacité à fixer les polluants devient au contraire un vecteur de la biodisponibilité, et non une protection. C'est le cas pour certains planctons et organismes benthiques ou des bivalves* dont l'activité de broutage ou de filtration est très forte. C'est aussi le cas pour les PCB dont la principale voie de contamination est la nourriture. Néanmoins, si les observations existent, les modèles qui permettent de décrire et quantifier la biodisponibilité des substances fixées sur des particules restent souvent à construire.

Doser les contaminants *in situ* grâce aux échantillonneurs passifs

La mesure de la contamination par des méthodes classiques d'analyse chimique, telles qu'utilisées pour l'établissement des NQE, ne permet pas d'évaluer la biodisponibilité des micropolluants. Depuis les années 1980, différents systèmes d'échantillonnage passif ont été développés pour la mesure des contaminants chimiques dans l'eau. Leur objectif est d'améliorer la pertinence de la mesure en terme de risque écotoxicologique, tout en produisant des données intégrées sur de plus longues durées. Immergés de quelques jours à plusieurs semaines, ces systèmes extraient et concentrent les contaminants présents. Moyennant la connaissance des paramètres qui gouvernent les cinétiques d'échange entre l'eau

et l'échantillonneur, il est possible de quantifier une concentration moyenne dans l'eau à partir des teneurs accumulées. Pour certains d'entre eux, l'échantillonnage est sélectif et donne accès à une mesure approchée de la biodisponibilité. Deux de ces outils ont été particulièrement utilisés par les équipes du PIREN-Seine : les DGT (*Diffusive gradient in thin films*) pour les métaux et les SPMD (*Semi-permeable membrane device*) pour les molécules organiques hydrophobes. Ces techniques sont aujourd'hui de précieux outils pour l'amélioration des campagnes de mesures. Leur applicabilité à large échelle a été démontrée dans le cadre du PIREN-Seine.



Figure 11 : Photographies de trois DGT (à gauche) et de deux SPMD (à droite) prêtes à être exposées dans le milieu aquatique (photos : Cemagref).

LA DGT, OUTIL POUR LA MESURE IN SITU DES MÉTAUX LABILES*

Ce gradient de diffusion en couche mince est un dispositif d'accumulation passive des métaux sous forme labile. Il est composé d'un support plastique sur lequel sont disposés successivement une phase pour laquelle les cations métalliques ont une très forte affinité (résine Chelex), un hydrogel de diffusion et un filtre de protection en polycarbonate. Les cations métalliques se fixent de façon irréversible sur la résine. Au cours de l'immersion de la DGT, l'accumulation des métaux sur la résine est proportionnelle au temps et à la concentration en métal labile dans le milieu.

La concentration en métal labile est proche de celle de

l'ion libre, et inférieure à celle mesurée dans l'eau après filtration. Elle constitue une première approximation de la concentration en métal biodisponible. Plus précisément, pour le cuivre et le cadmium, la concentration en métal labile surestime généralement la concentration biodisponible à des niveaux toxiques (Buzier, 2005), mais en constitue une bien meilleure estimation que la concentration en métal dissous. À l'inverse, à des niveaux de contamination plus réalistes et non toxiques, la concentration bioaccumulable du cuivre est légèrement sous-estimée par une mesure du cuivre labile (Ferreira et al., 2008), comme le montre la figure 12.

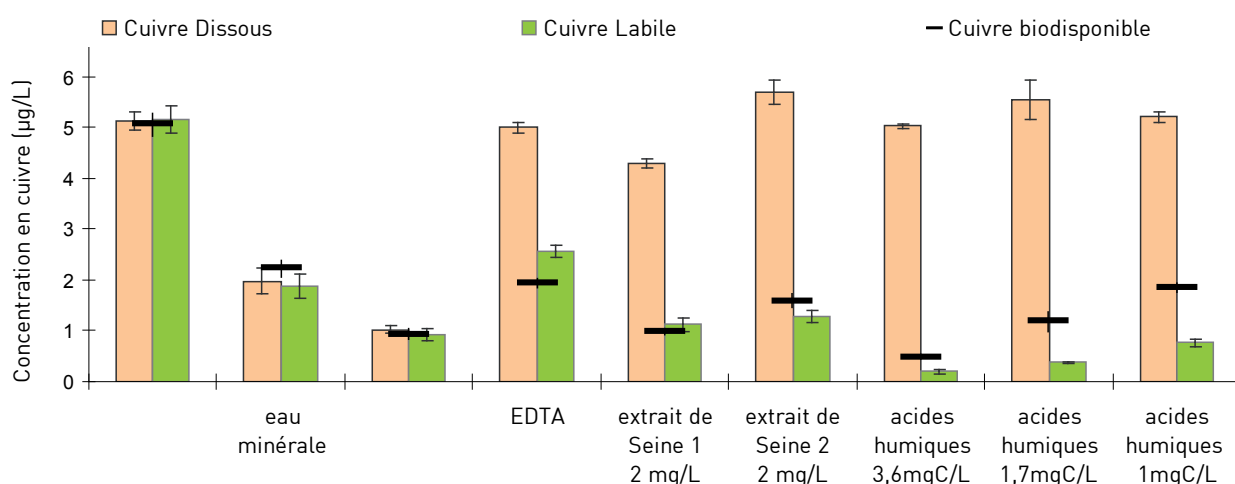


Figure 12 : Comparaison des concentrations en cuivre total, en cuivre labile mesuré par DGT et en cuivre biodisponible mesuré au moyen de cinétiques d'accumulation du cuivre dans des mousses aquatiques (Ferreira et al., 2008).

LA SPMD, OUTIL POUR ÉVALUER LA CONCENTRATION DISSOUE LIBRE DES CONTAMINANTS ORGANIQUES HYDROPHOBES

Cette membrane semi-perméable est un échantillonneur passif breveté, constitué d'un tube en polyéthylène, renfermant une couche mince de lipide (trioléine). Les composés organiques hydrophobes sont solubilisés dans la membrane et migrent jusqu'à la phase lipidique. Le dispositif immergé dans le milieu aquatique entre quelques jours et plusieurs mois accumule donc les substances organiques hydrophobes dont le coefficient de partage octanol/eau KOW est supérieur à 1000, dissoutes et libres du milieu. Les PCB, les HAP, les pesticides organochlorés ou encore les phénols ou dérivés benzéniques seront ainsi facilement accumulés. Les contaminants plus hydrophiles* (résidus de certains médicaments ou de certains pesticides...) ne seront pas concentrés.

La très faible porosité de la membrane laisse penser que la fraction échantillonnée est proche de la fraction dissoute libre des contaminants. La différence est attribuée aux composés fixés sur les matières organiques dissoutes de l'eau, ces complexes étant trop gros pour traverser les membranes. En comparant la distribution entre des HAP disponibles et des HAP non disponibles pour l'accumulation en présence de différentes matières organiques, il a été vérifié que les fractions échantillonnées par la SPMD sont proches de celles accumulables par des daphnies (figure 13). L'échantillonnage par SPMD permet donc une approximation des contaminants biodisponibles dans l'eau, qui se trouvent eux aussi plutôt sous forme dissoute libre.

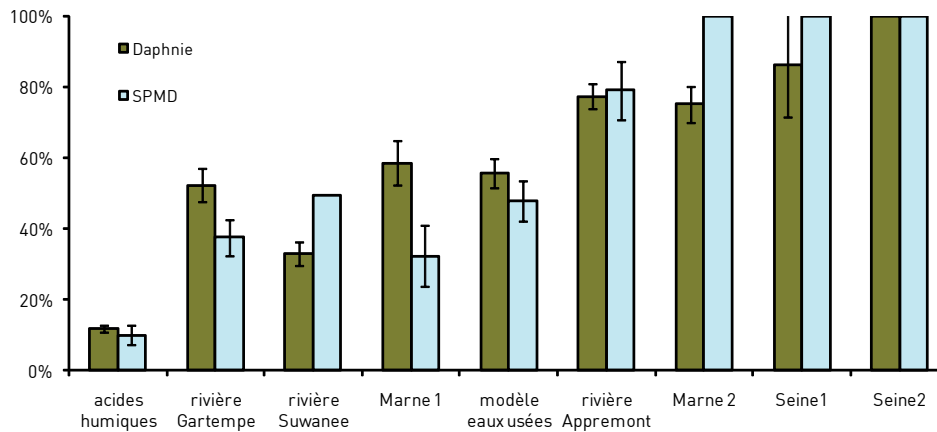


Figure 13 : Fraction de benzo[a]pyrène disponible pour être accumulée dans une daphnie et dans une SPMD dans différents milieux. Les milieux sont constitués d'eau minérale et de 10 mg C/L de matière organique dissoute d'origine variée : acides humiques commerciaux, jus de viande, ou extraits de rivières (Gourlay, 2004).

L'application des DGT et des SPMD en Seine permet de montrer que les fractions biodisponibles des contaminants dissous sont différentes selon les sites et selon les saisons (figure 14). En effet, la quantité et la nature des ligands organiques influencent la biodisponibilité des composés. On a ainsi pu voir que la matière organique plus labile présente en aval est en général moins efficace pour « piéger » les contaminants que les matières organiques naturelles des eaux de tête de bassin (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2007).

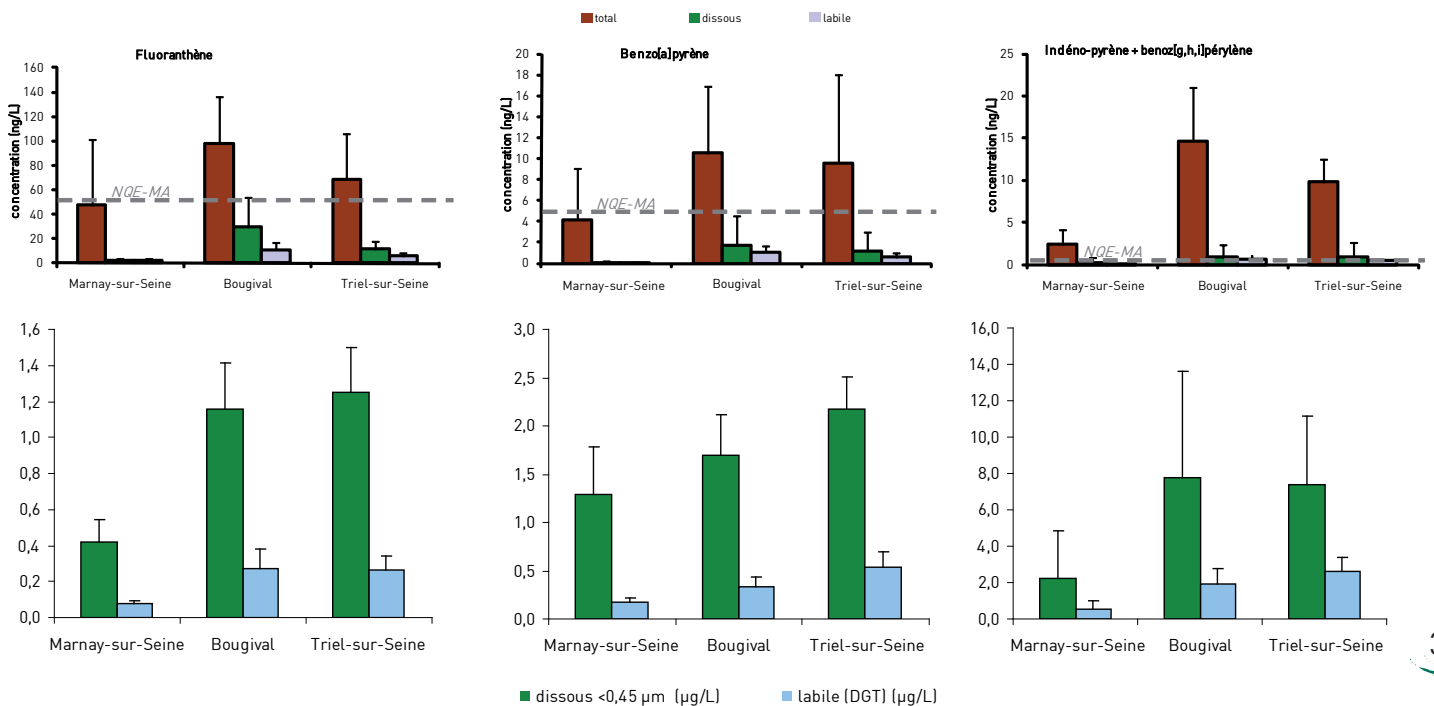


Figure 14 : Concentrations en HAP (ng/L) mesurées dans l'eau brute (eau et particules, HAP totaux, en marron) dans l'eau filtrée (HAP dissous, en vert) et concentration dans l'eau estimée à partir des teneurs accumulées dans les SPMD (HAP SPMD disponibles, en bleu). Concentrations en métaux (µg/L) mesurées dans l'eau filtrée (métaux dissous, en vert) et concentration labile dans l'eau estimée à partir des teneurs accumulées dans les DGT (en bleu). Les valeurs correspondent à la moyenne de mesures mensuelles réalisées entre novembre 2008 et septembre 2009 en trois sites de la Seine. On observe que les concentrations qui se rapprochent des concentrations biodisponibles dans l'eau sont nettement inférieures aux concentrations totales dissoutes et toujours bien en deçà des normes de qualité environnementales pour l'eau (normes HAP pour l'eau brute, normes métaux pour l'eau filtrée) (Bourgeault, 2010).

La bioaccumulation

La bioaccumulation signale la présence d'une contamination non seulement biodisponible mais capable de s'accumuler dans des organismes qui ne disposent pas des moyens suffisants pour éliminer assez rapidement le contaminant par rapport à sa vitesse d'absorption.

Elle résulte de contaminations récentes ou anciennes dans le milieu, mais n'induit pas nécessairement d'effet délétère sur l'organisme. Elle est mesurée par le dosage de la concentration d'une substance donnée dans l'organisme entier, dans un organe, ou dans un tissu. La concentration est souvent rapportée au poids sec de l'organe ou organisme analysé, ou à la masse de lipides quand il s'agit de molécules fortement lipophiles*.

biologique en comparant uniquement les teneurs sur les organismes de même espèce, si possible du même âge et du même sexe, sur des prélèvements réalisés aux mêmes périodes de l'année. Il importe aussi de vérifier les états de santé des organismes. Ainsi, certains protocoles recommandent de corriger les teneurs mesurées pour s'affranchir d'une partie de la variabilité biologique. Par exemple, pour les substances les plus hydrophobes qui s'accumulent dans les graisses, la concentration est généralement rapportée à la masse lipidique de l'organisme.

À titre d'exemple, la mesure des teneurs en PCB dans les tissus de poissons permet de suivre la contamination des écosystèmes par ces composés hautement rémanents. Les résultats issus des campagnes d'analyses réalisées en 2008 dans le cadre du plan national PCB (figure 15) mettent en lumière une contamination diffuse sur l'ensemble de l'axe Seine en Île-de-France, et une forte contamination des poissons en aval du bassin. La comparaison avec des données obtenues par les équipes du PIREN entre 1991 et 1996 (cf. le fascicule « La micropollution organique » du PIREN-Seine) sur les chairs de gardons montre néanmoins que les teneurs ont diminué d'un facteur 2 en une quinzaine d'années (1200 ng/g de poids frais mesuré en 1991 à Épinay, et 565 ng/g de poids frais mesuré à Nanterre en 2008).

UN OUTIL DE SURVEILLANCE DU MILIEU

La surveillance passive correspond au prélèvement d'organismes autochtones. Elle est utilisée pour le suivi temporel des contaminants. La surveillance active, qui consiste à transplanter un ensemble homogène d'organismes sur un site, est préférée pour un suivi spatial. Elle est aussi utilisée quand un organisme n'est pas présent ou difficile à prélever sur un site d'intérêt. Il faut alors veiller à ce que les organismes soient suffisamment robustes pour supporter la transplantation sans perturbation de leurs activités biologiques.

Le choix de l'organisme dépend des contaminants recherchés car les modes de contamination sont variables et le processus de bioaccumulation dépend de la biodisponibilité de la substance et des caractéristiques écologiques et biologiques des organismes. Dans un objectif de suivi de la qualité du milieu, il est indispensable de limiter la variabilité

Parce que la mesure de bioaccumulation a une forte pertinence pour l'évaluation du risque écotoxicologique, une réflexion est actuellement menée pour définir des NQE dans le biote qui pourraient remplacer les NQE dans l'eau (en particulier pour certains contaminants bioaccumulables comme le mercure, l'hexachlorobenzène et l'hexachlorobutadiène). Une difficulté majeure aujourd'hui est de définir des méthodes de prélèvements et d'analyses harmonisées.

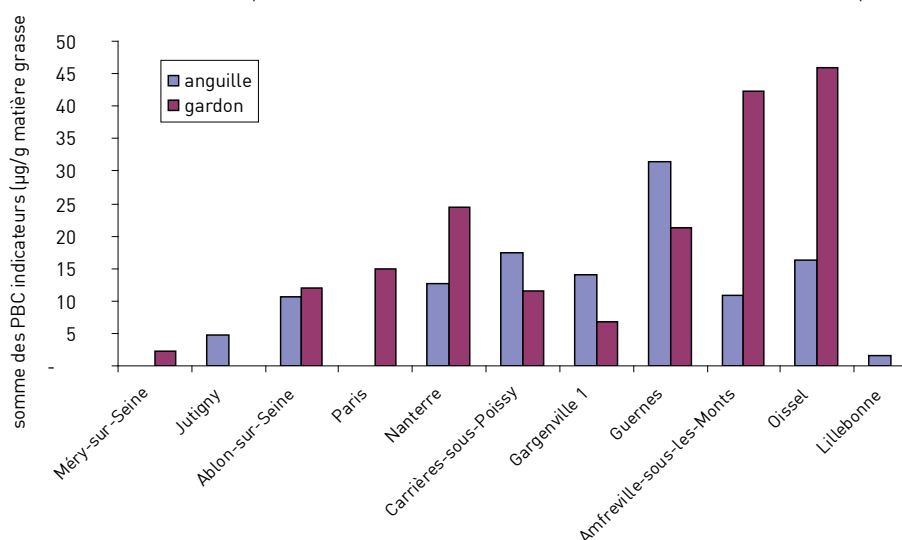


Figure 15 : Données de contamination en PCB mesurées dans les chairs d'anguilles et de gardons prélevées en 2008 en Seine dans le cadre du plan national PCB. Les données représentent la somme moyenne des PCB indicateurs exprimée en µg par g de matière grasse.

Les sentinelles du PIREN-Seine

Un organisme sentinelle est une espèce dont le comportement, la survie, ou d'autres réactions servent de « sonnette d'alarme » face à une perturbation du milieu. Ces organismes sont donc étudiés afin de renseigner sur la pression (toxique ou autre) que subit l'écosystème dans son ensemble. Le choix d'une espèce sentinelle dépend de plusieurs critères : sédentarité, aire de répartition large, facilité d'identification et de capture, longévité, et biologie de l'espèce.

Plusieurs espèces sentinelles ont été retenues par les équipes du PIREN-Seine dont le gammare *Gammarus pulex*, et le mollusque bivalve *Dreissena polymorpha*. Outre leur appartenance à des groupes zoologiques différents, ces deux invertébrés ont aussi comme intérêt de présenter des régimes alimentaires différents : déchiqueteur pour *G. pulex* et filtreur pour *D. polymorpha*. Enfin, ces deux espèces peuvent être utilisées aussi bien dans le cadre d'une biosurveillance* passive (populations autochtones largement présentes) qu'active par transplantation d'individus sur les sites d'études.

Ces deux invertébrés ont été choisis pour leur caractère ubiquiste dans le bassin de la Seine et leur capacité de résistance aux perturbations du milieu. Ces critères, qui en font de bons organismes sentinelles pour les écotoxicologues compte tenu de leurs capacités d'accumulation, leur confèrent aussi un potentiel invasif. Ainsi la dreissène, initialement présente en mer Noire, a progressivement envahi l'essentiel du territoire ouest-européen au cours des XIX^e et XX^e siècles (la dreissène a été signalée en Seine en 1867). Il est donc indispensable de s'assurer de leur présence dans les milieux d'étude, avant toute utilisation comme indicateur, et de limiter les transplantations par encagement aux milieux dans lesquels elle est déjà présente.

Quelques poissons sont aussi retenus comme organismes sentinelles par les équipes du PIREN-Seine, en particulier le gardon.



Figure 16 : Gammarus (à gauche) et dreissènes (à droite). Avant d'être transplantées, les dreissènes sont prélevées dans une zone peu contaminée, puis triées par taille de façon à avoir un échantillon le plus homogène possible (photos : Cemagref).

LIEN ENTRE LA CONTAMINATION DU MILIEU ET CELLE DU BIOTE

La bioaccumulation d'une substance se fait en plusieurs étapes : absorption par voie orale, respiratoire ou cutanée, assimilation, distribution dans différents tissus, métabolisation et élimination des fractions non utilisées ou non stockées. Pour une même espèce, tous ces phénomènes dépendent à la fois des conditions environnementales et de la physiologie de l'organisme exposé. Le lien entre la contamination d'un milieu et la teneur dans l'organisme en contact n'est donc pas trivial.

Par exemple, l'étude de la contamination de gammares autochtones sur l'ensemble du bassin a montré l'absence de lien direct entre les teneurs en métaux dans des gammares et la contamination de l'eau dans laquelle ils ont été échantillonnés (figure 17). Cette figure illustre aussi très bien la capacité des gammares à réguler les teneurs en certains métaux essentiels à leur métabolisme comme l'est le Zn : cette teneur est quasiment constante quelle que soit la contamination du milieu, alors que les teneurs en cadmium sont réparties sur une gamme beaucoup plus large de contamination, et reflètent donc beaucoup mieux la contamination biodisponible du milieu. De façon générale, la bioaccumulation sera donc une mesure d'autant plus pertinente pour évaluer la contamination du cours d'eau que l'organisme aura une faible capacité de régulation interne de ce contaminant.

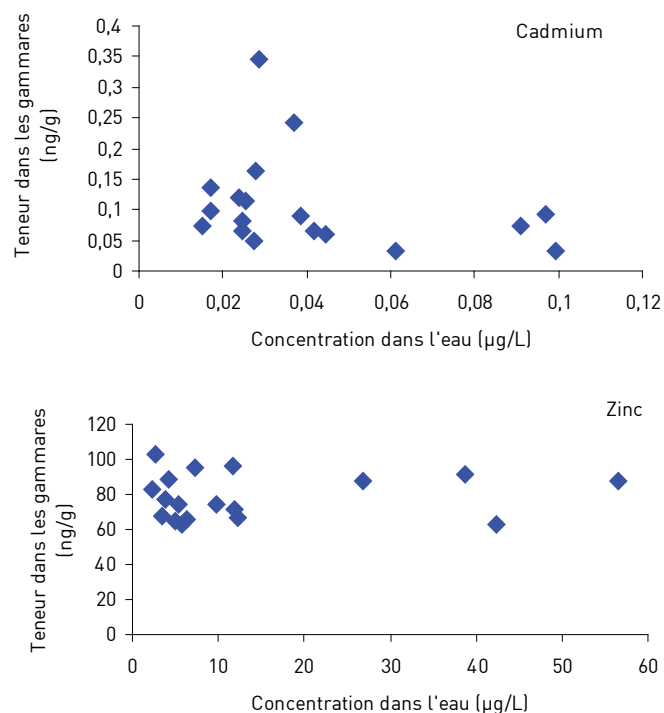


Figure 17 : Absence de relation entre la teneur dans le milieu et dans des gammares prélevés *in situ* pour le cadmium et pour le zinc. Les faibles variations de zinc illustrent que cet élément est essentiel pour l'organisme, et donc très régulé aux concentrations environnementales (données Cemagref, projet R2DS).



Préparation de l'installation d'échantillonneurs passifs SPMD dans la rivière.

MODÉLISATION DE LA BIOACCUMULATION

Les modèles appelés toxico-cinétiques permettent de décrire les processus de bioaccumulation et de faire le lien entre l'état du milieu et la bioaccumulation mesurée. Les cinétiques d'accumulation y sont décrites comme des flux d'entrée du contaminant dans l'organisme (par voie dissoute ou trophique), éventuellement des flux de contaminant au sein de l'organisme, et un ou des flux d'élimination (excrétion, dilution biologique si l'organisme change de poids).

C'est en prenant en compte les flux de métaux dans les dreissènes transplantées sur deux sites de l'Orge et non pas directement les concentrations qu'il a été possible de comprendre le lien entre la contamination du milieu et celle des organismes (figure 18).

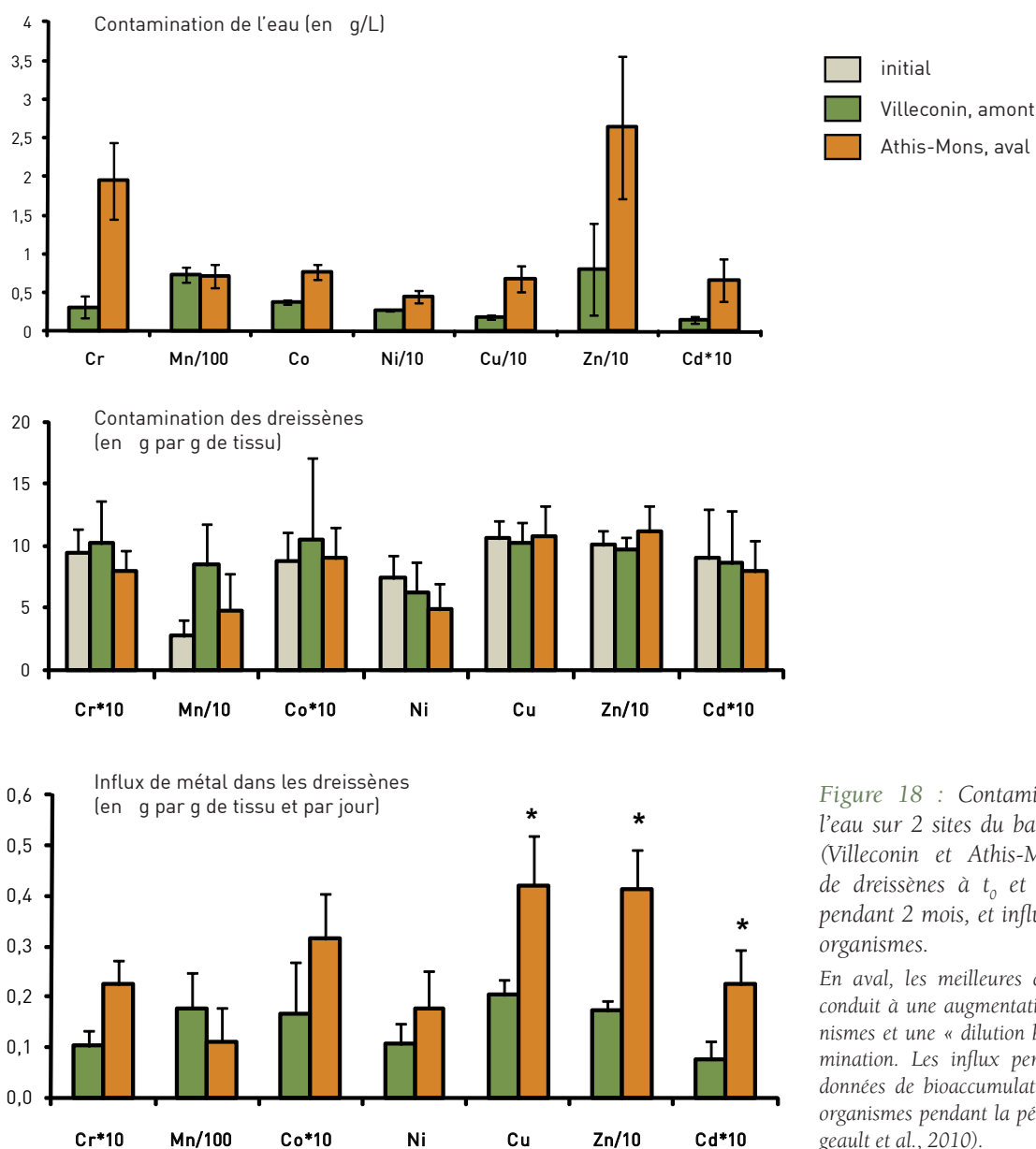


Figure 18 : Contamination métallique de l'eau sur 2 sites du bassin versant de l'Orge (Villeconin et Athis-Mons). Contamination de dreissènes à t_0 et après transplantation pendant 2 mois, et influx de métaux chez ces organismes.

En aval, les meilleures conditions nutritives ont conduit à une augmentation de la taille des organismes et une « dilution biologique » de la contamination. Les influx permettent de corriger les données de bioaccumulation de la croissance des organismes pendant la période d'exposition (Bourgeault et al., 2010).

Chacun des flux d'internalisation des contaminants peut être fonction à la fois des caractéristiques physico-chimiques du milieu et de la physiologie de l'organisme considéré.

Par exemple, la dreissène se contamine à la fois par voie respiratoire et par voie alimentaire. La filtration d'eau, qui sert à apporter l'oxygène aux branchies et la nourriture, est donc un mécanisme majeur dans le processus de contamination.

Ce mécanisme dépend de paramètres environnementaux tels que la quantité et la qualité des matières en suspension, la température... Les variations du taux d'accumulation de cadmium dépendent ainsi principalement de la teneur du milieu en matière organique (figure 19).

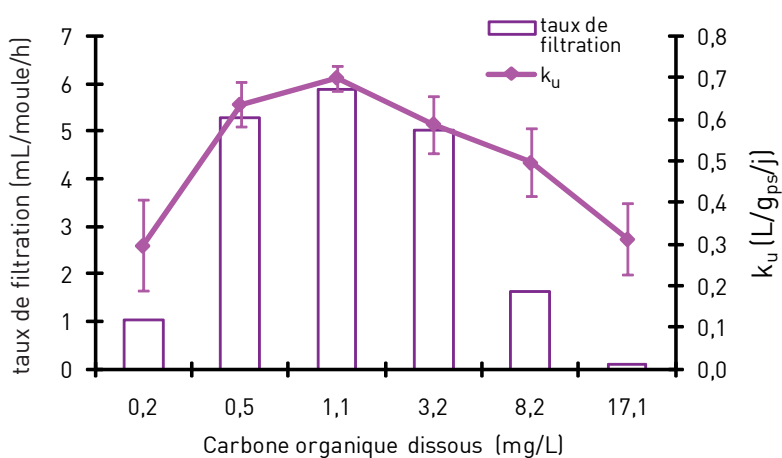
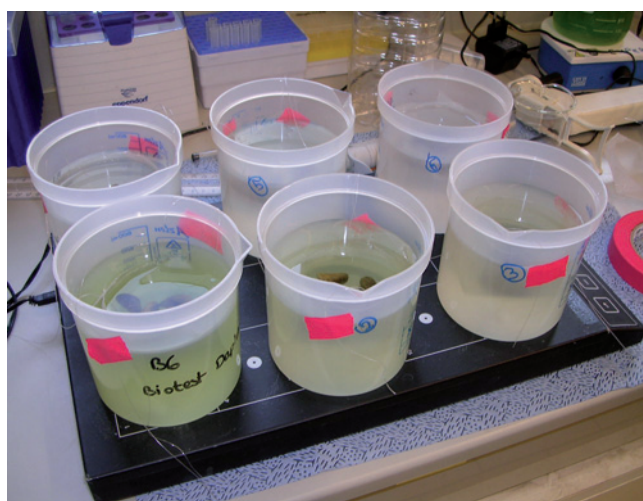


Figure 19 : Évolution du taux d'accumulation de cadmium (k_u) et du taux de filtration pour les dreissènes en fonction de la teneur en matière organique dissoute de l'eau (Bourgeault, 2010).



Mesure du taux de filtration de dreissènes en conditions contrôlées au laboratoire.

Bioaccumulation et métabolisation

La bioaccumulation des micropolluants organiques est aussi liée à leur résistance à la biodégradation dans l'organisme, aussi appelée métabolisation.

Ces composés peuvent en effet subir des réactions de fonctionnalisation* (métabolisme de phase I) ou de conjugaison* (augmentation du caractère hydrophile, métabolisme de phase II) qui visent à faciliter leur excrétion. C'est par exemple le cas des HAP dans la plupart des organismes. Les teneurs retrouvées sont alors faibles même si les organismes sont exposés à des concentrations fortes dans le milieu.

Dans le cas de micropolluants hydrophobes relativement rémanents, comme les contaminants aromatiques halogénés du type PBDE ou PCB, les capacités de régulation et d'excrétion sont plus faibles. On peut alors observer un lien entre contamination du milieu et quantités bioaccumulées dans les organismes.

Ainsi, dans le bassin de l'Orge, la bioaccumulation des PBDE « légers », tri- à hepta-bromés, par *G. pulex* est fortement corrélée avec le degré de contamination du biotope, appréhendé via celui du sédiment. En outre, le rapport entre les teneurs observées chez *G. pulex* et celles observées dans le sédiment dépend du niveau de métabolisation des congénères (figure 20).

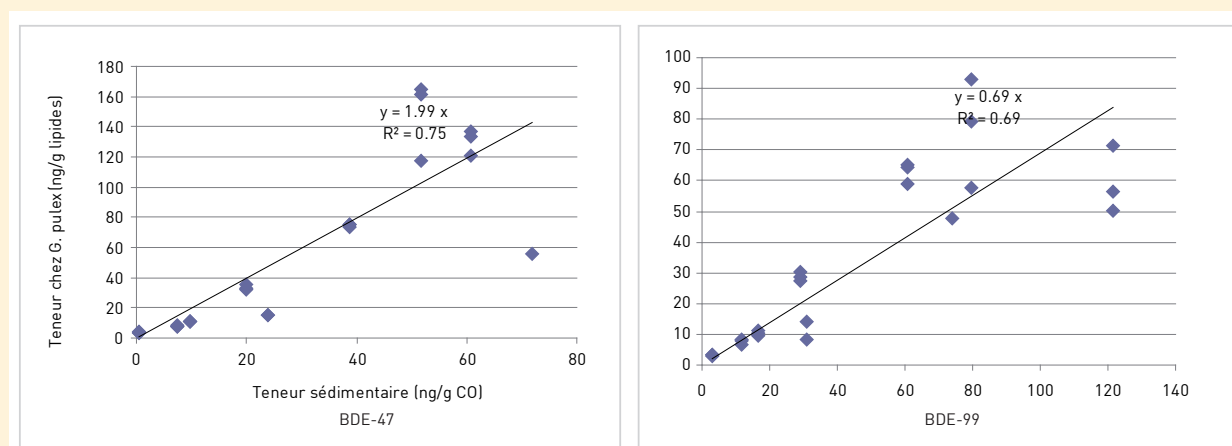


Figure 20 : Relation entre les teneurs en PBDE observées chez *G. pulex* (normalisation par rapport au taux de lipides) et dans le sédiment (normalisation par rapport au taux de carbone organique).

Si l'on omet le BDE-209, très peu biodisponible, les BDE-99 et -47 sont les deux PBDE les plus abondants dans le sédiment. Les teneurs en BDE-47 et BDE-99 observées chez *G. pulex* sont bien corrélées avec celles déterminées dans le sédiment. Cependant, la pente observée pour le BDE-99 est environ trois fois plus faible que celle observée pour le BDE-47. Ceci s'explique par la métabolisation du BDE-99 *in vivo* chez *G. pulex*, qui génère la formation, entre autres métabolites, du BDE-47. On observe un processus similaire chez certains poissons comme les cyprinidés (Campagne du printemps 2009, données du PIREN-Seine).



l'impact de la contamination sur les organismes du milieu

L'évaluation du risque par substance renseigne peu sur l'impact réel de la contamination sur le milieu. Pour bien évaluer l'impact sur les organismes de l'écosystème, que ce soit les individus, la population ou même les communautés, plusieurs réponses biologiques sont proposées. Parmi elles, les biomarqueurs* constituent une solution prometteuse qui permettrait à la fois de diagnostiquer la pression chimique et de prédire les effets sur les organisations biologiques supérieures.



L'évaluation du risque ne permet pas de prédire l'impact *in situ*

La démarche d'évaluation du risque proposée dans les réglementations repose sur plusieurs extrapolations : de la toxicité aiguë à la toxicité chronique, de l'observation sur un nombre limité d'espèces à l'ensemble des espèces de l'écosystème... Bien que pour chaque molécule la démarche se veuille protectrice, le risque écotoxicologique pour le milieu peut être sous-estimé car celui-ci est soumis à l'exposition simultanée d'un très grand nombre de substances qui, prises individuellement sont sans effet. Excepté dans les cas de fortes contaminations accidentelles, l'évaluation du risque par substance renseigne finalement peu sur l'impact réel.

Les analyses physico-chimiques permettent de quantifier un grand nombre de contaminants au sein des différentes matrices mais n'informent pas sur leur impact écotoxicologique réel. Les bio-essais en laboratoire suggèrent qu'aux doses environnementales, les contaminants induisent des effets toxiques. Cependant, ces analyses ne reflètent pas le comportement d'un organisme entier. L'impact écotoxicologique dans un milieu peut être appréhendé par l'observation des perturbations chez les organismes prélevés, ou placés en exposition directement dans le milieu.

On peut ainsi examiner par ordre croissant de spécificité pour un polluant ou une famille de polluants :

- la présence/absence, ou l'abondance d'un organisme, ce qui renseigne sur l'état des communautés. Ces critères de bio-indication sont les plus holistiques ou systémiques et servent à la définition du bon état écologique des masses d'eau. Mais les relations statistiques entre ces critères et la présence de toxiques ne sont guère significatives. D'autres facteurs tels que la morphologie et l'état trophique du milieu impactent également très fortement les communautés présentes dans le milieu.

- des modifications de certaines fonctions observées sur des individus (biomarqueurs*) mettent en évidence soit un effet toxique, soit la présence de contaminants en contact avec un individu, en se référant à des organismes sentinelles. Comme pour la bioaccumulation, deux stratégies peuvent être mises en œuvre : le suivi d'organismes autochtones ou le suivi d'organismes exposés artificiellement (encagés) dans le milieu. L'utilisation d'organismes encagés permet en particulier d'utiliser des individus connus (âge, provenance, maturité sexuelle, taille...) et de standardiser la durée d'exposition, ce qui facilite la comparaison entre organismes contrôles et organismes exposés.

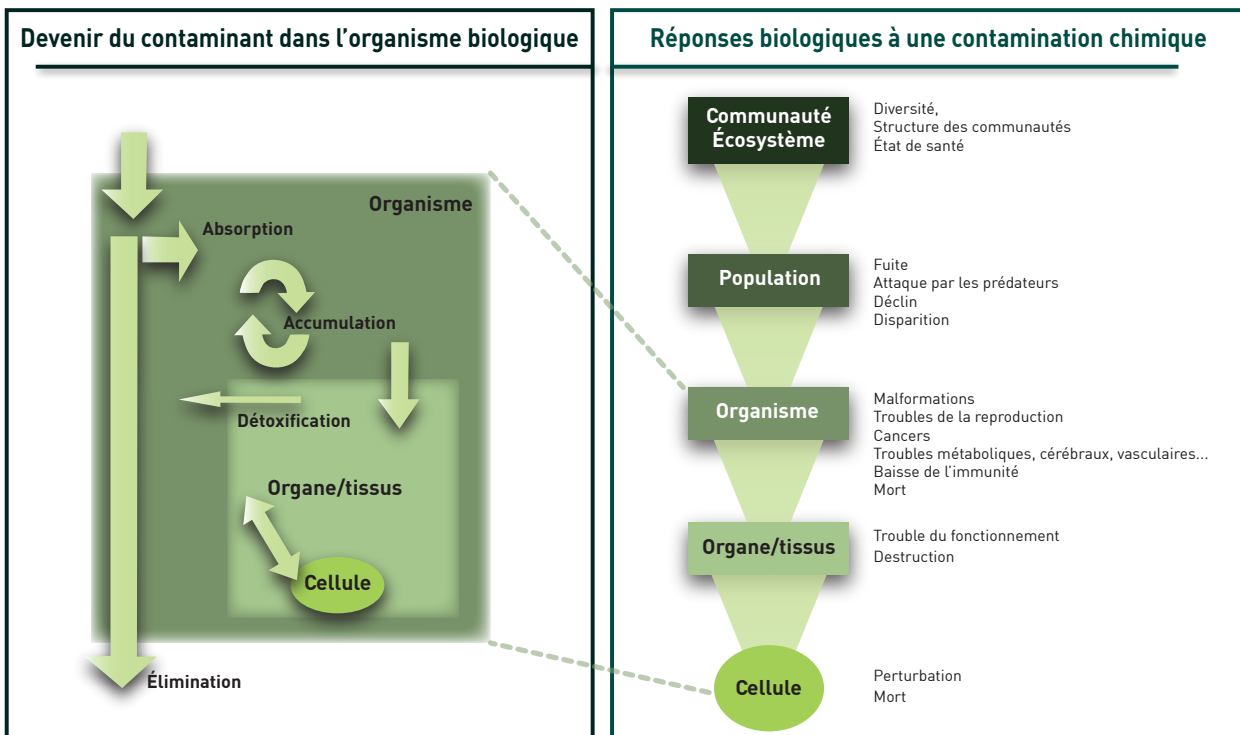


Figure 21 : Schéma simplifié de la complexité des phénomènes toxiques induits par des polluants sur les organismes puis descriptif de la chaîne d'effets jusqu'aux impacts sur les populations et l'écosystème (Fig. Y. Levi et C. Gourlay-Francé).

Le principe des biomarqueurs

En réponse à un stress (toxique ou autre), l'organisme peut tenter de s'adapter par une série de mécanismes biologiques dont il dispose. C'est lorsque la concentration ou la durée d'exposition sont trop importantes que les mécanismes adaptatifs ou de réparation peuvent être dépassés, avec des conséquences plus ou moins graves pour l'individu. Ces différents mécanismes peuvent être détectés et utilisés pour marquer la perturbation, la quantifier et la relier à une contamination chimique.

Un biomarqueur est observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental. Il révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance à caractère polluant.

On distingue deux types de biomarqueurs :

- les biomarqueurs d'exposition, qui signent l'activation de mécanismes de régulation, d'adaptation et de défense ;
- les biomarqueurs d'effet, qui diagnostiquent un dépassement, éventuellement transitoire des capacités de régulation de l'organisme et constituent un signal d'alerte d'apparition de perturbations du fonctionnement de l'organisme, voire de sa population. Le stress chimique n'est pas l'unique cause de modifications biologiques chez un organisme vivant. L'habitat, la nourriture, la prédation, le parasitisme, ou sa dynamique de développement provoquent des réponses biologiques d'adaptation ou de perturbation du fonctionnement de l'organisme. Il est donc nécessaire de connaître les niveaux constitutifs des biomarqueurs et leurs variations dues aux facteurs physiologiques ou environnementaux afin de distinguer la réponse induite par un contaminant de celle due à la variabilité naturelle ou aux autres pressions.

Du fait de la variabilité interspécifique des réponses biologiques, comme pour la bioaccumulation, les biomarqueurs sont évalués sur des organismes-sentinelles pour lesquels un travail préalable de développement/validation de la mesure du biomarqueur a été réalisé. En particulier :

- la sensibilité de la réponse aux stress autres que l'exposition à des toxiques et la variabilité inhérente (en fonction de l'environnement, de la physiologie et du stade de vie...) ont été préalablement définis ;
- la variabilité de l'intensité de la réponse à l'exposition chimique, sa cinétique et sa rémanence par rapport au stress sont des éléments importants pour l'interprétation de la relation entre pression toxique et réponse biologique ;
- la signification toxicologique des biomarqueurs (le

lien entre la réponse apportée par le biomarqueur et les effets physiologiques sur les organismes) doit être connue, afin d'utiliser le biomarqueur pour un diagnostic d'impact sur l'organisme voire toute la biocénose lorsque l'organisme sentinelle est suffisamment représentatif ou joue un rôle central dans la biocénose.

Les biomarqueurs permettent une évaluation intégrée dans le temps de l'exposition ou de l'effet des polluants environnementaux biodisponibles. Ils restituent, à un instant donné, une image intégrative des variations qualitatives et quantitatives de la contamination. Ils sont susceptibles de refléter l'exposition des organismes à des polluants rapidement métabolisables et peu accumulés (ce que ne peut montrer un suivi de bioaccumulation). Les espèces sentinelles sélectionnées peuvent aussi, en fonction de leur habitat et de leur position dans le réseau trophique, fournir des informations sur la façon dont se comportent les polluants dans les écosystèmes.



Sortie terrain : prélèvement de gammarès sur un site de référence en vue d'expérimentations de laboratoire et transplantation.

DIFFÉRENTS BIOMARQUEURS POUR MESURER LES IMPACTS

Différents biomarqueurs ont été développés et mis en œuvre ces vingt dernières années. Cette multiplicité est due à la fois au fait que les contaminants n'ont pas tous les mêmes modes d'actions, mais aussi au fait que les observations peuvent être faites à différentes échelles biologiques (au niveau de la cellule, d'un organe, d'un organisme entier...). On obtient ainsi différentes informations sur les causes de perturbations et sur leurs effets potentiels. Plusieurs types d'analyse ont été mis en œuvre pour évaluer l'impact de la contamination chimique sur les organismes (invertébrés ou poissons).

Tableau 4 : Principaux biomarqueurs utilisés *in situ* sur les organismes aquatiques (invertébrés ou vertébrés), classés selon le type de perturbation observé et selon le niveau d'organisation biologique* considéré (échelle d'observation).

Échelle / Type de perturbation	Moléculaire/cellulaire	Tissus	Organisme entier
	- Réalisme écologique + + vitesse de réponse, précocité du signal -		
Altération du développement			Déformation malformation des larves
Altération du métabolisme général	Allocation énergétique, stress oxydatif		Indice de condition, taux de nutrition
Métabolisme de défense	Protéines multi, métallothionéines, GST, Cytochrome P450, EROD		
Neurotoxicité	Acétylcholinestérase (AChE)		Mouvement
Reprotoxicité	Vitellogénine	Anomalies des gonades	Imposex*, intersex
Génotoxicité / cancérogénicité	Mesure des adduits ADN, test des Comètes et test des micronoyaux	Tumeurs du foie, leucémies	

Les systèmes de défense : un marqueur de la présence de composés toxiques

Suite à leur pénétration dans les organismes, la plupart des substances xénobiotiques* subissent des transformations biologiques dans le but de protéger l'organisme. Plusieurs enzymes impliquées dans ce processus physiologique sont désormais des biomarqueurs reconnus. Ainsi, la métallothionéine, une protéine capable de fixer des métaux dans la cellule est un marqueur d'exposition aux métaux. La glutathion-S-transferase (GST), une famille d'enzymes de métabolisation dont la fonction est de conjuguer une molécule pour favoriser son élimination, est aussi utilisée comme biomarqueur. L'activité 7-éthoxyrésorufine-O-dééthylase (activité EROD) peut être induite suite à l'exposition des organismes à des

xénobiotiques, en particulier des composés organiques hydrophobes comme les HAP, les PCB, les dioxines et certains organochlorés. L'activité EROD est sans doute le biomarqueur le mieux documenté, ce qui pourrait rendre possible son utilisation dans des programmes de surveillance de l'environnement. Il a été employé dès les années 1990 par les équipes du PIREN-Seine sur le gardon (tableau 5). Nous avons ainsi pu observer l'augmentation de cette activité en zone fortement contaminée, et une corrélation entre l'activité EROD et la bioaccumulation des PCB. L'importance de la période de prélèvement pour la mesure de ce biomarqueur a pu être mise en évidence lors de la campagne de mesures en 1991, puisque la sensibilité de la mesure était beaucoup plus forte après la ponte.

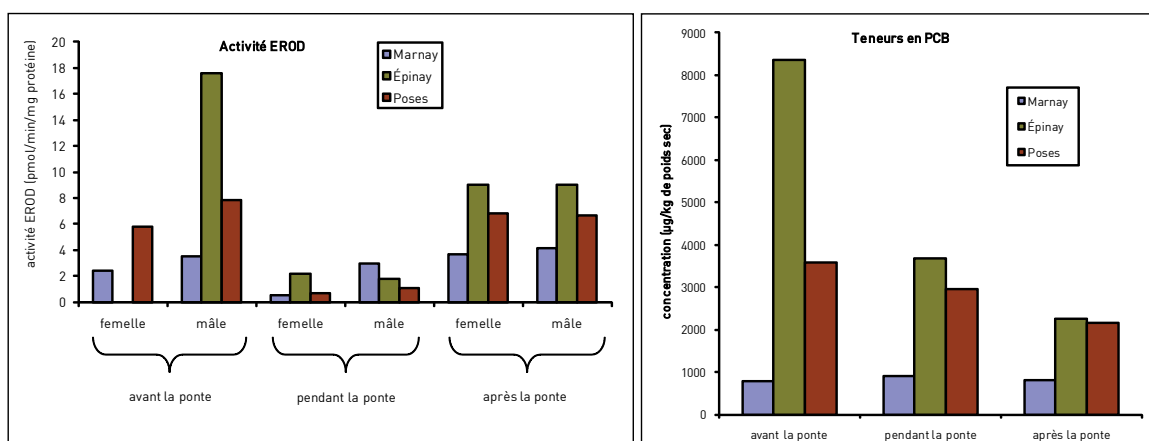


Figure 22 : Activité EROD dans des gardons prélevés sur trois sites de la Seine en 1996, avant et après la ponte. Cette étude a montré la corrélation forte qui existe entre la teneur en PCB accumulés dans les tissus et l'activité de détoxification EROD, validant ainsi la pertinence d'utiliser cette activité comme biomarqueurs d'exposition (Blanchard et al., 1999).

Observation de la génotoxicité

Plusieurs types de biomarqueurs permettent d'évaluer les dommages sur l'ADN d'organismes exposés à des composés toxiques. Parmi eux, le test « comète » et le test « micronoyaux » ont été utilisés pour observer les cassures de l'ADN et les anomalies chromosomiques chez la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*).

Dans le bassin de l'Orge, une élévation du taux de cassures de l'ADN a été observée chez les dreissènes transplantées en aval du bassin ainsi qu'une induction du taux de micronoyaux (figure 23) après seulement un mois d'exposition. Ces réponses génotoxiques sont liées à la contamination du milieu par un cocktail de contaminants issus des activités agricoles (pesticides) ou industrielles, mais aussi à l'urbanisation très dense des espaces en zone aval, ce qui entraîne une contamination des eaux de ruissellement que draine le bassin de l'Orge.

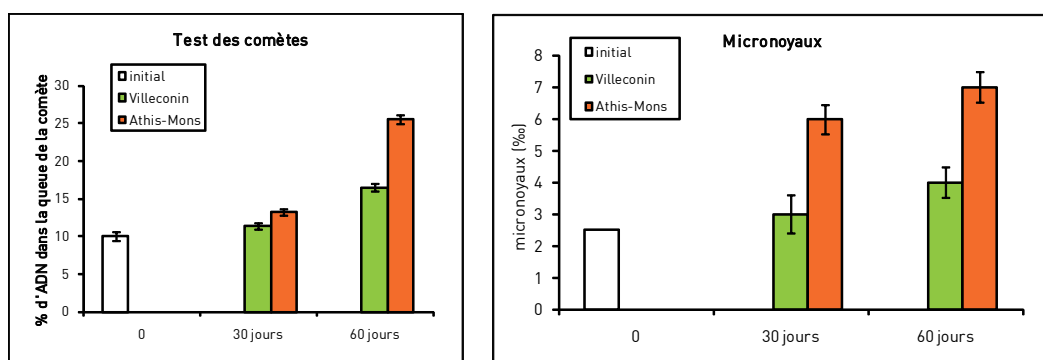
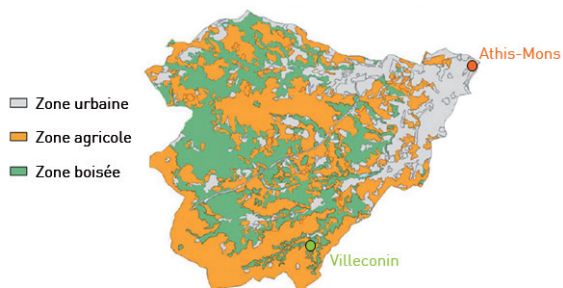


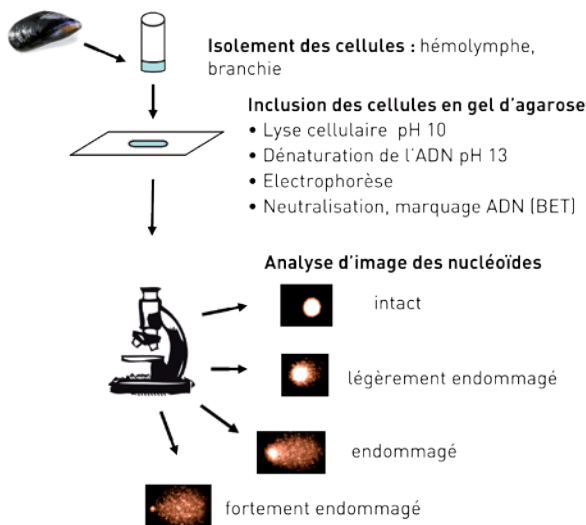
Figure 23 : Taux de cassures de l'ADN et d'apparition de micronoyaux dans les cellules de branchies de dreissènes encagées pendant 1 et 2 mois à Villeconin (Renarde, affluent de l'Orge) et Athis-Mons (Orge à la confluence avec la Seine). La valeur à J0 représente la mesure faite sur les dreissènes lors de leur prélèvement dans le canal Marne-Meuse.



LES BIOMARQUEURS DE GÉNOTOXICITÉ, MODE D'EMPLOI

Le test des comètes évalue la génotoxicité.

Il mesure les cassures de l'ADN résultant d'oxydations de l'ADN, de lésions instables en conditions alcalines telles que les adduits à l'ADN, d'intermédiaires de réparation. Les observations faites sont donc potentiellement réparables. Son succès est dû à sa sensibilité, la rapidité de sa mise en œuvre et son faible coût.



Protocole du test des comètes

les cellules isolées et de viabilité correcte (> 75 %) sont incluses dans un microgel d'agarose sur une lame de microscope. Une étape de lyse cellulaire permet la solubilisation des membranes du cytoplasme et nucléoplasme et de la plupart des protéines nucléaires. Elle laisse l'ADN sous forme superenroulée correspondant au nucléoïde. Après dénaturation alcaline, l'ADN est soumis à une électrophorèse. Seul l'ADN cassé va pouvoir migrer vers l'anode en formant une « queue de comète » qui sera visualisée grâce à un marquage de l'ADN par un composé fluorescent.

L'intensité de fluorescence de la queue de comète, relativement à la tête, reflète le nombre de cassures de l'ADN.

Le test « micronoyaux » est un test de mutagénèse.

Il permet de visualiser les cassures de chromosomes résultant d'événements clastogènes (cassures de chromosomes) ou aneugènes (anomalie de la division cellulaire). Les lésions observées sont pérennes et pourront conduire à la mort de la cellule.



Photo 1 : Noyau de cellule de branchie de dreissène ayant un micronoyau (x1000) (F. Vincent-Hubert)

Protocole du test «micronoyaux»

les cellules fixées sur une lame de microscope sont marquées par un fluorochrome spécifique de l'ADN.

L'observation au microscope optique des noyaux fluorescents permet d'identifier des anomalies nucléaires comme les micronoyaux (un micronoyau est un noyau dont la taille est comprise entre 1/3 à 1/6 du noyau).

Biomarqueurs du métabolisme énergétique

L'ensemble du métabolisme basal des organismes, mais également les grandes fonctions telles que la croissance ou la reproduction reposent sur l'énergie disponible pour l'organisme. Différentes approches permettent de donner une information sur l'état physiologique des organismes (indices de condition comme le poids, le rapport taille / poids ou masse coquille / masse tissus mous, etc.) et sur l'allocation cellulaire de l'énergie, notamment par la mesure de réserves énergétiques (glycogène, lipides, protéines), qui sont sensibles à la présence d'un stress chimique. L'énergie disponible pour un organisme est directement dépendante de sa capacité à prélever la nourriture

(taux de nutrition) et à la transformer en éléments assimilables (capacité digestive).

Par conséquent, les scientifiques se sont intéressés à évaluer la capacité des enzymes digestives à être utilisées comme indicateur de la quantité d'énergie acquise par l'organisme et de son état physiologique. Ainsi, lors d'une exposition durant 30 et 60 jours de *Dreissena polymorpha* sur un site amont (Villeconin) et aval (Athis-Mons) du bassin versant de l'Orge, des activités d'enzymes digestives plus faibles ont été mesurées au niveau d'une structure digestive (stylet cristallin), pour les individus du site aval (figure 24).

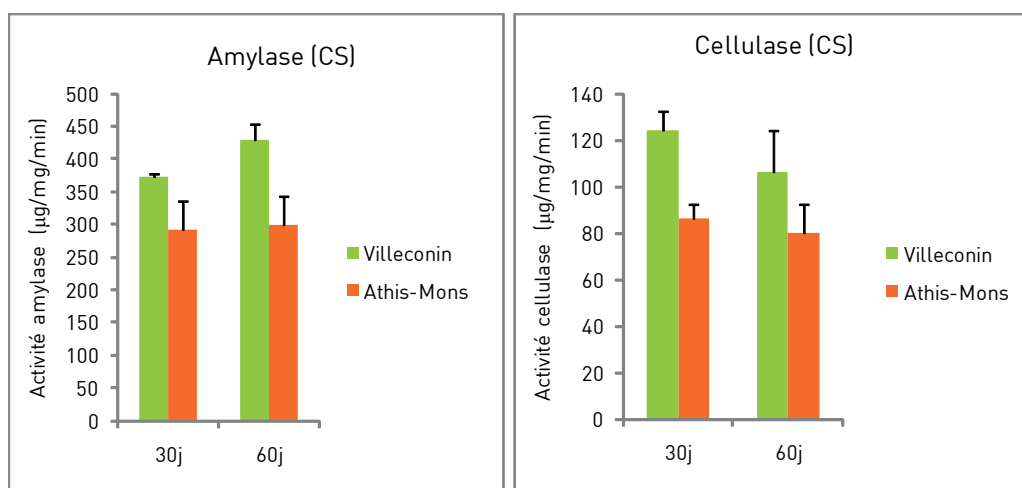


Figure 24 : Expression des activités de deux enzymes digestives, l'amylase et la cellulase, dans le stylet cristallin de dreissènes encagées pendant 1 et 2 mois à Villeconin (Rémarde, affluent de l'Orge) et Athis-Mons (Orge) (Bourgeault et al., 2010).

Biomarqueurs du système immunitaire

Le système immunitaire est en charge de la protection des organismes vis-à-vis des agressions pathogènes d'origine bactérienne, virale ou parasitaire. Les altérations du système immunitaire sont souvent précédées par des changements de certains de ses composants qui peuvent être utilisés comme biomarqueurs.

De nombreuses molécules telles que les métaux lourds (mercure, cuivre, cadmium), les HAP, les PCB, et les pesticides peuvent être immunotoxiques pour les vertébrés, créant selon les cas une immuno-stimulation* ou une immuno-dépression*.

La réponse, dite de la « flambée respiratoire », représente le principal mécanisme cellulaire non-spécifique dans la défense contre les pathogènes. Elle induit la réduction de l'oxygène en anion superoxyde (O_2^-), qui est ensuite converti en différentes espèces réactives de l'oxygène. Les espèces réactives de l'oxygène sont de puissants agents oxydants microbiocides, et leur production est un indicateur de l'intensité de la réponse immunitaire innée et de la santé générale de l'organisme. Ce biomarqueur a été mesuré dans le rein de chabots échantillonnés sur cinq sites du bassin versant de la Vesle (figure 24).

Les résultats obtenus montrent que, sur ce bassin dédié à des activités agro-viticoles, les chabots présentent une diminution de l'activité de flambée oxydative qui reflète probablement l'exposition à des substances chimiques.

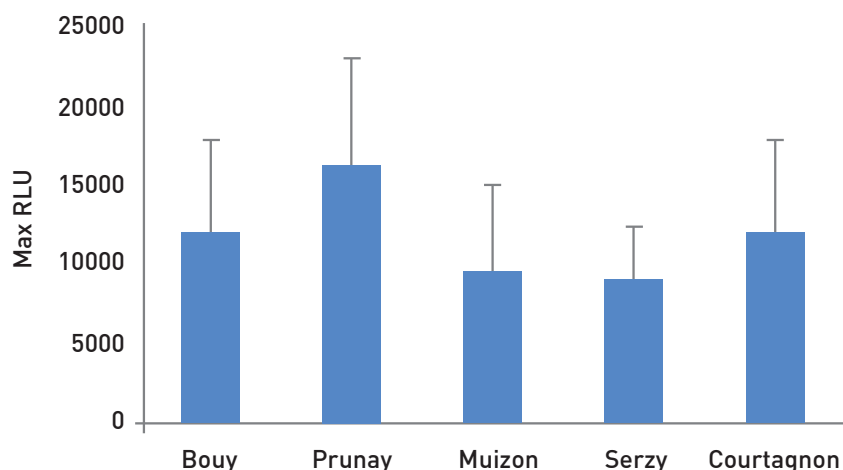


Figure 25 : Mesure de la flambée oxydative dans le rein de chabots échantillonnés sur le bassin de la Vesle. Les différences observées reflètent probablement les effets immuno-toxiques ou immuno-stimulateurs de la contamination chez le poisson (données de septembre 2009, source INERIS).

Vers l'écotoxicologie des populations et des communautés

OBSERVATION DES MALFORMATIONS ET PATHOLOGIES

L'observation de pathologies ou de malformations chez les poissons dans l'estuaire de la Seine a été révélée il y a une quinzaine d'années. Elle a donné lieu à plusieurs projets de recherche pour mieux comprendre l'étendue des pathologies et les causes possibles. Ainsi, l'apparition de pathologies chez le flet a été étudiée de 1995 à 1999 par l'Ifremer dans le cadre du programme Seine Aval. La fréquence de flets atteints de lymphocystis augmente de manière régulière avec l'âge, et de façon très légèrement plus prononcée chez les femelles. Seuls les flets adultes sont atteints d'ulcères cutanés. En ce qui concerne les pathologies tumorales, aucune tumeur cutanée n'a été observée. La fréquence de préneoplasies hépatiques est de 0,6 % et celle d'adénomes de 3,1 % ; aucune lésion néoplasique hépatique n'a été observée. Les fréquences de pathologies des flets de l'estuaire et de la baie de Seine sont deux fois plus faibles que celles observées sur les côtes néerlandaises. Néanmoins ces fréquences sont loin d'être négligeables compte tenu du fait qu'il s'agit d'un échantillonnage aléatoire (Burgeot et al., 1999).

L'observation des perturbations assez importantes dans l'estuaire nous conduit aujourd'hui à initier des recherches sur la partie amont du bassin. Les premières observations réalisées sur les poissons prélevés dans le bassin de l'Orge ou dans la Seine tendent à montrer une perturbation de leur physiologie. Ainsi, des gardons mâles pêchés en aval de l'Orge, expriment de la vitellogénine, une phospholipoprotéine permettant la constitution des réserves de vitellines et susceptible de limiter la fertilité des mâles qui ne peuvent facilement l'éliminer. Des gardons intersexués ont été observés dans l'Orge, à Viry-Chatillon, ce qui montre l'occurrence de perturbations du système hormonal important pour la reproduction et le développement des vertébrés. Diverses pathologies ont aussi été identifiées sur ces populations (tableau 5). La compréhension du lien de cause à effet reste néanmoins à construire. Ces thématiques seront développées dans les prochaines phases du PIREN-Seine.

	Pathologies observées sur les gonades des poissons (en % d'individus touchés)				Caractéristiques sexuelles			
	Nécroses	Mélano-macrophage	Foyers inflammatoires	Parasitisme	IGS (%)	IGS (%)	Sex-ratio	Inter-sexués (%)
Viry-Châtillon sur l'Orge	25	25	21	0	3,7 (0,7)	1,8 (0,2)	53,3	6,3
Villecresnes sur le Réveillon	43	29	4	0	6,9 (2,0)	3,4 (3,0)	25,9	14,3

Tableau 5 : Caractéristiques liées au sexe et au développement gonadique et pathologies observées chez deux populations de gardons matures prélevées en 2007 à Villecresnes (sur le Réveillon) et à Viry-Châtillon (en aval de l'Orge).

Le site du Réveillon (affluent de l'Esnonne) à Villecresnes est situé sur un bassin versant essentiellement voué à des activités rurales et agricoles mais sur lequel les zones pavillonnaires et d'activités présentent une importante croissance depuis plusieurs années. L'Indice gonado-somatique (IGS) renseigne sur le stade de maturité sexuelle des individus (données PIREN-Seine, 2007).

LA MÉTHODE DU POIDS DE L'ÉVIDENCE

Les informations apportées par la mesure de biomarqueurs sur le terrain peuvent concerner des effets systémiques, générés par des causes multiples (contaminants chimiques, stressors biologiques, ressources trophiques, température, hypoxie*...) ou des effets spécifiques, pour lesquels des hypothèses de causes chimiques peuvent être avancées.

Il est évident qu'aucun biomarqueur ne peut à lui seul prendre en compte la diversité des contaminants et la multiplicité de leurs effets sur les organismes. Ainsi, la mise en œuvre d'un ensemble cohérent de biomarqueurs (ou batterie de biomarqueurs) est indispensable pour établir un diagnostic de l'état de perturbation des organismes et tenter de caractériser des effets précoces de la contamination sur les organismes. Actuellement, les études intégrant des biomarqueurs dans un objectif de surveillance ou d'évaluation du risque associent une batterie de biomarqueurs : moléculaires, cellulaires, physiologiques. Des biomarqueurs de « stress » au niveau cellulaire, non spécifiques d'un type de contamination, sont intégrés pour caractériser un « état de santé » individuel éventuellement fragilisé.

Pour établir un diagnostic de l'état de contamination et des effets de cette contamination sur les écosystèmes, il est nécessaire d'avoir une approche complète, combinant la mesure de différents biomarqueurs à des analyses chimiques et des mesures au niveau des populations et des communautés. La méthode dite « du poids de l'évidence » propose de combiner l'ensemble de ces outils (figure 26). L'application de cette démarche permettra de prendre en considération la multiplicité des effets de la contamination sur les différents niveaux d'organisation biologique. Si aujourd'hui les outils d'observations sont disponibles pour la plupart de ces niveaux d'organisation de l'écosystème, la compréhension des interrelations entre chaque niveau d'organisation reste largement à améliorer.

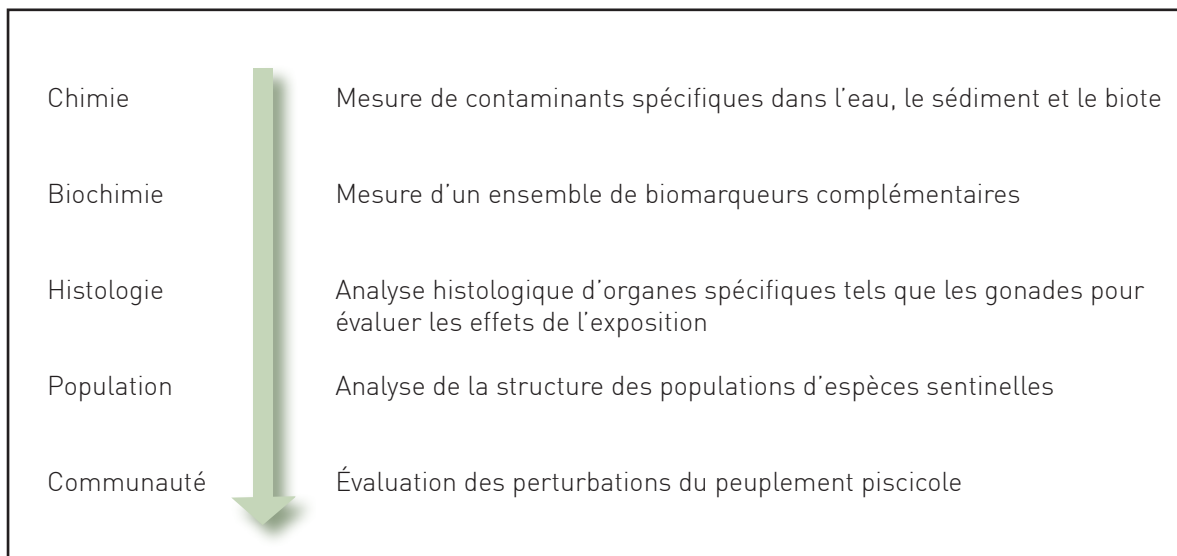


Figure 26 : Approche basée sur le poids des évidences qui associe des mesures chimiques, biochimiques, histologiques* et populationnelles, pour établir un lien entre les atteintes à différents niveaux d'organisation biologique dans les cours d'eau (Sanchez et Porcher, 2009).



De l'écotoxicologie à l'écologie du stress chimique

Les milieux aquatiques du bassin de la Seine sont aujourd'hui soumis à une pression anthropique forte, associée à une pression agricole sur une partie de son territoire. La plupart des gros points noirs de contamination liés à des rejets industriels mal traités ont aujourd'hui quasiment disparu. Les macropollutions organiques ou azotées ont elles aussi été largement réduites grâce au développement de l'assainissement des eaux usées. Ces progrès ont conduit à la réapparition d'espèces aquatiques disparues il y a quelques décennies. L'eau reste néanmoins contaminée par un grand nombre de substances qui sont le reflet de notre mode de vie. Mais les concentrations en micropolluants sont en général proches des normes de qualité environnementale, ce qui pourrait laisser penser que l'impact de la présence de ces contaminants est négligeable.

Pourtant, certaines espèces aquatiques vivant dans le bassin de la Seine présentent des caractéristiques d'une pression toxique : apparitions de malformations, modifications du comportement, activations d'enzymes de défense ou de réparation, contaminants bioaccumulés dans les tissus... Ces observations sont en général plus accentuées dans les zones urbaines qu'en aval du bassin. L'impact écotoxicologique de la pression chimique est donc réel dans le bassin de la Seine, mais il reste difficile d'en évaluer les sources ou d'identifier les familles de composés responsables des perturbations car ces effets sont sans doute liés aux mélanges de polluants. Il est tout aussi difficile de déduire de ces observations faites sur quelques individus les conséquences sur l'écosystème dans son ensemble.

Pour proposer des moyens d'actions et envisager une réduction à la source des composés toxiques, il faut pouvoir identifier les causes des perturbations. L'évaluation de la toxicité potentielle des masses d'eau accessible par différents essais de laboratoire, de plus en plus miniaturisés, est aujourd'hui en grand développement. Ces essais permettent d'observer de façon très sensible des effets potentiels spécifiques d'un mode d'action et d'un groupe d'espèces. Cette nouvelle approche, dans laquelle l'appareil analytique de chromatographie est remplacé par une réponse biologique spécifique, est tout à fait prometteuse et permet de s'affranchir de la non-exhaustivité de l'analyse chimique. Elle tient compte des effets combinés

de mélange de contaminants là où l'analyse chimique permet de mesurer certaines substances seulement. Cependant, de la même façon que l'évaluation de la contamination chimique d'un échantillon nécessite de faire plusieurs analyses pour quantifier plusieurs classes de contaminants, différents types d'effets, pour différents groupes d'espèces sont indispensables pour une évaluation fiable non pas de « LA » mais « DES » toxicités des masses d'eau étudiées. De plus, la capacité prédictive des essais de laboratoire pour évaluer le risque pour le milieu reste limitée. Un enjeu fort pour les chercheurs est aujourd'hui de donner les clés d'interprétation des essais *in vitro* pour en tirer le maximum quant au risque potentiel et réel de la pression toxique sur les organismes du milieu.

Pour identifier les substances responsables de la toxicité observée, une nouvelle méthodologie est aujourd'hui proposée dans laquelle l'échantillon est soumis à une succession de fractionnements chimiques et à chaque étape, la toxicité des fractions est évaluée. Les fractions toxiques sont ensuite soumises à un nouveau fractionnement chimique puis testées jusqu'à l'identification de la ou des fractions toxiques qui sont analysées pour identifier les substances actives. L'application de cette démarche à l'échelle d'un bassin permettrait d'identifier des familles de substances à risque pour le milieu.

Les études en laboratoires permettent de reproduire certaines caractéristiques fonctionnelles d'un écosystème pour évaluer sa perturbation en présence de composés toxiques. Ce travail est indispensable pour comprendre les mécanismes chimiques et biologiques qui gouvernent les effets toxiques, mais l'extrapolation aux effets sur les écosystèmes en est à son balbutiement. En effet, la complexité et la variabilité du milieu naturel ne permettent pas d'observer les mécanismes mis en évidence au laboratoire. Des expérimentations de plus grande échelle, dans lesquelles les conditions d'exposition pourraient être contrôlées, proches du milieu naturel et dans lesquels les niveaux supérieurs d'organisation biologique seraient reproduits sont nécessaires. Dans cette perspective, la mise en place de mésocosmes de grande taille (proposés aujourd'hui par la mairie de Paris sur le site d'Ivry-sur-Seine), qui seraient adaptés à l'étude du fonctionnement de l'écosystème du bassin de la Seine, apparaît comme un atout très fort pour les chercheurs en écotoxicologie.

CONCLUSION

Le diagnostic environnemental sur la base des outils écotoxicologiques comme les biomarqueurs est tout à fait complémentaire des indices écologiques aujourd'hui appliqués, qui, s'ils renseignent sur les dysfonctionnements de l'écosystème, donnent rarement des indications causales. Le lien entre écotoxicologie et bio-indication* reste néanmoins à construire. L'extrapolation des observations *in situ* à l'écosystème reste en grande partie non résolue. Il est indispensable de mieux connaître la variabilité de la sensibilité des espèces qui composent l'écosystème. De plus, il est indispensable de savoir si les réponses biologiques observées sont des signaux précoces d'une perturbation de plus grande échelle, si les dommages sur l'ADN observés sur des adultes seront des causes de maladies ou de mutation sur les générations suivantes... Il est nécessaire de développer les connaissances et les modèles permettant d'interpréter les perturbations du système endocrinien en termes de perturbation de la reproduction et d'impact sur la population.

Le développement de nouveaux biomarqueurs plus génériques, informant de l'état de santé global de l'organisme, et pour lesquels les variations pourraient renseigner sur les conséquences écologiques est une perspective intéressante pour réaliser le changement d'échelle indispensable pour passer de l'écotoxicologie à l'écologie du stress chimique. L'étape ultime consisterait aussi à tenir compte des facteurs de stress multiples, enjeu particulièrement important dans les milieux sous pression anthropique, c'est-à-dire combinant une pression chimique, physique, et une profonde modification des habitats.

Par des mécanismes évolutifs, les organismes vivants peuvent réagir à long terme à des mélanges de contaminants très faiblement dosés. Le diagnostic de la qualité écotoxicologique d'un milieu basé sur l'observation d'effets ou la mesure de biomarqueurs peut être biaisé si les populations du milieu sont devenues résistantes à la pression chimique par adaptation génétique ou acclimatation physiologique. Ces adaptations individuelles ou collectives favorisent la tolérance globale des communautés. L'acquisition de tolérance résulte à la fois d'acclimatation physiologique, d'adaptation génétique des populations, du remplacement d'espèces les plus sensibles... Fort de ce constat, la mesure de la tolérance à un toxique d'une communauté [approche PICT] est proposée

comme outil d'évaluation de la qualité des milieux car particulièrement adaptée pour l'observation d'une réponse à une contamination chronique. Si cette réponse est très sensible et a une pertinence écologique forte, en faire un outil de diagnostic reste donc un enjeu important. En particulier parce que les mécanismes en jeu sont complexes, et que la composition, donc la tolérance d'une communauté donnée, dépend intrinsèquement de son environnement.

Enfin, si l'adaptation de l'écosystème à la pression chimique pourrait apparaître comme bénéfique, la modification du cycle de vie des populations, la baisse de biodiversité génétique qui l'accompagne induisent très probablement une vulnérabilité accrue face aux perturbations environnementales, y compris d'origine naturelle. La capacité des écosystèmes aquatiques à maintenir leurs services écologiques en cas de perte de diversité ou de modification des cycles biologiques est aujourd'hui complètement inconnue.



Récupération du biofilm en vue d'un suivi de l'acquisition de tolérance aux métaux des communautés du périphyton.

Bibliographie

- Aït-Aïssa S., 2009. Outils bio-analytiques in vitro : principe et apports pour la surveillance des contaminants organiques dans le milieu aquatique. Rapport d'étude INERIS N°-DRC-08-95306-16732A.
- Blanchard M., Teil M. J., Carru A. M., Ollivon D., Garban B., Chesterikoff A., Chevreuil M., 1999. PCB and PAH Impacts on Cytochrome P-450-Dependent Oxidases in Roach (*Rutilus rutilus*) from the Seine River (France) Archives of Environmental Contamination and Toxicology 37, 242-250.
- Bourgeault, A. 2010. Bioaccumulation par *Dreissena polymorpha* : quel reflet de la contamination chimique du milieu ? Expérimentation - Observation - Modélisation. Thèse de doctorat UPMC. 200 p.
- Bourgeault A., Gourlay-Francé C., Vincent-Hubert F., Palais F., Geffard A., Biagianti-Risbourg S., Pain-Devin S., Tusseau-Vuillemin M. H., 2010. Lessons from a transplantation of zebra mussels in a small urban river: an integrated ecotoxicological assessment. Environmental Toxicology 25, 468-478.
- Burgeot T., Minier C., Bocquené G., Vincent F., Cachot J., Loizeau V., Jaouen A., Miramand P., Guyot T., Lesueur P., Rochard E., Boët P., 1999, Fascicule SA 1.14 - Des organismes sous stress
- Buzier R. 2005. Spéciation et biodisponibilité des métaux dans les eaux résiduaires urbaines. Thèse de doctorat, Université Paris 12.
- Ferreira D., Tousset N., Ridame C., Tusseau-Vuillemin M.-H., 2008. More than inorganic copper is bioavailable to aquatic mosses at environmentally relevant concentrations. Environmental Toxicology and Chemistry 27, 2108-2116.
- Gourlay C. 2004. Biodisponibilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les écosystèmes aquatiques : influence de la matière organique naturelle et anthropique. Thèse de doctorat de l'École Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts. 128 pages
- Miège C., Karolak S., Gabet V., Jugan M.L., Oziol L., Chevreuil M., Levi Y., Coquery M. (2009) Evaluation of estrogenic disrupting potency in aquatic environments and urban wastewaters: combination of chemical and biological analysis. TrAC 28(2), 186-195.
- Sanchez, W. et Porcher, J.-M. 2009. Utilisation des biomarqueurs pour la caractérisation de l'état écotoxicologique des masses d'eau. Techniques, Sciences et Méthodes. n°5, p 29-38.
- Tusseau-Vuillemin M. H., Gourlay C., Lorgeoux C., Mouchel J.-M., Buzier R., Gilbin R., Seidel J. L., Elbaz-Poulichet F., 2007. Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. Science of the Total Environment 375, 244-256.
- Vincent-Hubert F., Heas-Moisan K., Munsch C., Tronczynski J., 2009. Investigating the sources of mutagenic activity found in the Seine river estuary using two short term tests, the Ames test and the comet assay. (soumis).

Glossaire

Absorption : mécanisme physicochimique consistant en la fixation réversible de substances dissoutes (ou gazeuses) à l'intérieur d'une particule solide. Le processus inverse est l'excrétion.

Adduit : un adduit (pour addition de produit) à l'ADN est l'ajout d'une partie de molécule au sein de la molécule d'ADN. La présence d'adduits peut provoquer des mutations, voire des cancers. Des adduits sont possibles également sur l'ARN.

ADN : acide désoxyribonucléique, molécule que l'on retrouve dans toutes les cellules vivantes. L'ADN est le support de l'information génétique, il constitue le génome des êtres vivants et se transmet en totalité ou en partie lors des processus de reproduction.

Adsorption : mécanisme physicochimique consistant en la fixation réversible de substances dissoutes (ou gazeuses) à la surface d'une particule solide. Le phénomène inverse, la désorption, se produit lorsque la concentration de la substance dans la phase libre repasse en dessous d'une certaine valeur d'équilibre.

Agoniste : décrit le fait qu'une molécule a la propriété d'activer un récepteur membranaire donné.

Androgène : se dit d'une hormone qui stimule le développement et le maintien de caractères masculins.

Antagoniste : décrit le fait qu'une molécule s'oppose à une autre pour l'activation d'un récepteur membranaire.

Bassin versant : le bassin versant d'un fleuve est la surface terrestre drainée par ce fleuve et qui collecte vers lui toute la partie non évaporée des précipitations.

Bio-indicateur : tout organisme ou système biologique utilisé pour apprécier une modification (détérioration) de la qualité du milieu, quel que soit son niveau d'organisation et l'usage qui en est fait. Espèce vivante qui, par sa présence ou son absence, son abondance ou sa rareté, permet d'apprécier le degré de pollution de l'eau, du sol ou de l'air. Cette évaluation est appelée bio-indication.

Bioaccumulation : processus par lequel les substances chimiques sont retenues par les organismes, directement dans l'environnement ou par la consommation d'aliments contenant ces substances.

Bioamplification : augmentation, à chaque maillon de la chaîne alimentaire, de la concentration d'un polluant dans les organismes.

Biomarqueur : un biomarqueur est une variable biologique mesurable liée à un processus biochimique ou physiologique normal ou non. En écotoxicologie, il permet de détecter la présence de polluants dans l'environnement.

Biosurveillance : désigne l'utilisation du vivant (organisme ou ensemble d'organismes à tous les niveaux d'organisation biologique moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique et écologique) pour surveiller l'évolution, des modifications, des altérations, ou la stabilité de la qualité d'un milieu

Biote : ensemble de la flore et de la faune (micro-organismes compris) que l'on trouve dans une région ou secteur donné (biotope).

Bivalve : se dit de mollusques (classe des *Bivalvia*) dont la coquille est constituée de deux parties distinctes et attachées, plus ou moins symétriques, pouvant s'ouvrir ou se refermer. Cette classe comprend environ trente mille espèces, notamment les moules, les huîtres et les palourdes.

Colloïde : très fine particule, minérale (argile, oxyde de fer...) ou organique (acide humique). Les colloïdes traversent les filtres utilisés lors de l'échantillonnage des substances dissous, les substances fixées sur des colloïdes seront analysées comme dissoutes alors qu'elles ne le sont pas en réalité.

Complexe : entité moléculaire résultant de l'association d'un élément métallique avec une entité ionique ou neutre.

Conjugaison : liaison d'une substance xénobiotique avec un composé produit par l'organisme pour le rendre plus soluble en vue de son excrétion.

Cycle biogéochimique : passage alternatif d'un élément de l'état organique à l'état minéral, et dont les différentes phases se déroulent au sein de la biosphère.

Daphnie : petit invertébré zooplanctonique qui appartient à la famille des crustacés cladocères. La daphnie est un organisme modèle très utilisé en écotoxicologie pour mesurer les effets des substances chimiques sur les organismes d'eau douce.

Épidémiologie : science qui étudie la répartition, la fréquence des pathologies, et plus largement les facteurs influant sur la santé humaine.

Fonctionnalisation : processus enzymatique permettant l'hydrolyse d'une substance en vue de son excrétion. Ce processus, qui correspond au métabolisme de phase 1, s'accompagne généralement d'une réaction de conjugaison.

Génotoxicité : désigne la propriété de certains toxiques physiques ou chimiques à produire des dommages du patrimoine génétiques (ADN).

Histologie : branche de la biologie qui étudie les tissus, à mi-chemin entre la biologie cellulaire et l'anatomie, qui a pour but d'explorer la composition, la structure, le renouvellement des tissus, ainsi que les échanges cellulaires en leur sein.

Hydrophobe / hydrophile : se dit d'un composé ou d'une molécule ne possédant pas de charges ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogènes avec l'eau. Un composé est dit hydrophobe ou lipophile quand il est soluble dans les corps gras, mais insoluble dans l'eau. A contrario, un composé ou une molécule possédant la capacité de créer des liaisons hydrogènes avec l'eau est dit hydrophile.

Hypoxie : état d'oxygénation insuffisante, pouvant engendrer des perturbations pour les organismes vivants du milieu aquatique.

Immunostimulation : déclenchement ou augmentation des défenses immunitaires d'un organisme du fait de la présence d'un agent pathogène.

Immunodépression : diminution des défenses immunitaires qui favorise ainsi les infections par des agents pathogènes.

Imposex : l'imposex se produit quand des caractéristiques mâles, comme le développement d'organes génitaux mâles, par exemple le pénis et le canal déférent, se développent sur un organisme femelle normal.

Kow ou coefficient de partage octanol/eau : le coefficient de partage Kow d'un composé organique caractérise la lipophilie (hydrophobie) d'une molécule. Il existe une corrélation entre la liposolubilité (hydrophobie) d'une molécule et les aptitudes à sa bioconcentration et, éventuellement, à sa bioamplification* dans les écosystèmes.

Labile : se dit des composés chimiques peu stables et dont les cinétiques de dissociation sont rapides.

Ligand biologique : récepteur biologique théorique pour rendre compte des interactions entre un élément biologique et un composé chimique.

Lipophilie : affinité chimique avec les lipides. La lipophilie caractérise en général des substances organiques (non minérales) non chargées électriquement : ainsi, les vitamines A, D, E et K sont lipophiles, à la différence des vitamines de la famille B et des vitamines C, qui sont hydrophiles (elles attirent l'eau).

Lysosome : organelles cellulaires contenant de nombreux enzymes hydrolytiques impliquées dans plusieurs processus indispensables à la survie cellulaire.

Matière organique dissoute : matière organique présente dans l'eau sous forme de molécules isolées capables de traverser un filtre de faible porosité (généralement 0,45 µm).

Mésocosme : dispositif expérimental clos, de taille moyenne, destiné à étudier les effets des polluants sur le milieu. Les mésocosmes présentent un intérêt expérimental évident car ils se situent à une échelle beaucoup plus réaliste et représentative des conditions écologiques réelles que les microcosmes utilisés dans les expérimentations de laboratoire sur les polluants.

Métabolisation : processus de transformation de substances chimiques dans l'organisme vivant.

Mutagenèse : modification du matériel génétique d'un organisme qui peut être naturelle ou provoquée par l'exposition à des agents chimiques, physiques ou viraux. Ces modifications peuvent concerner quelques bases de l'ADN ou alors des chromosomes.

Niveau d'organisation biologique : ensemble des échelles auxquelles peut être étudié un organisme (molécule, tissus, organisme entier, population, communauté).

Niveau trophique : positionnement d'une espèce au sein d'une ou d'un ensemble de chaînes alimentaires (réseaux trophiques).

Organisme pélagique : les organismes pélagiques sont ceux qui vivent en pleine eau, en opposition avec les organismes benthiques qui vivent au contact des sédiments.

Perturbation endocrinienne : modification de l'action physiologique des hormones naturelles par un composé (perturbateur).

Plasmide : un plasmide désigne en microbiologie ou en biologie moléculaire une molécule d'ADN surnuméraire distincte de l'ADN chromosomique, capable de répllication autonome et non essentielle à la survie de cellule.

REACH (Registration, Evaluation and Autorisation of Chemicals) : le règlement REACH n° 1907/2006 défini par l'Union européenne en décembre 2006 a pour but de redéfinir les règles pour la mise sur le marché des substances chimiques. Celle-ci doivent être enregistrées, leur impact sur l'homme et l'environnement doit être évalué suivant des procédures décrites dans TGD, et des mesures d'interdiction ou de restriction d'usage peuvent intervenir en cas d'impact suspecté.

Reprotoxique : se dit d'une substance qui entraîne des troubles de la reproduction.

Synergie : phénomène par lequel les effets de deux substances appliquées simultanément sont supérieures à la somme de leurs effets individuels.

TGD, Technical Guidance Document : document élaboré par la commission européenne qui fournit des recommandations concernant les méthodes d'évaluation des risques pour les substances chimiques. Edité en 2003 pour permettre l'application d'une série de directives concernant les risques chimiques, ce volumineux document présente différents types de méthodes à suivre pour l'évaluation des risques pour l'homme et son environnement, allant de la collecte des données et l'estimation des données manquantes, à la définition de scénarii et de modélisation.

Toxicologie : discipline scientifique étudiant les substances toxiques, leur étiologie, les effets de leur exposition sur un organisme, et les moyens de les combattre en son sein.

Xénobiotique : désigne une substance fabriquée par l'homme qui n'existe pas naturellement dans l'environnement, qui possède des propriétés toxiques, même à très faible concentration.



**eau
seine**
NORMANDIE

L'Agence de l'eau Seine-Normandie

est un établissement public du ministère chargé du Développement durable.

Sa mission est de financer les ouvrages et les actions qui contribuent à préserver les ressources en eau et lutter contre les pollutions, en respectant le développement des activités économiques. Pour ce faire, elle perçoit des redevances auprès de l'ensemble des usagers qu'elle redistribue sous forme d'aides financières aux collectivités locales, aux industriels, aux artisans, aux agriculteurs et aux associations qui entreprennent des actions de protection du milieu naturel. Ses actions s'expriment à travers un programme pluriannuel. Les études et recherches pilotées par l'Agence contribuent à la gestion équilibrée de la ressource en eau et de tous les milieux aquatiques.

Siège

51, rue Salvador Allende
92027 Nanterre Cedex
Tél. 01 41 20 16 00
Fax 01 41 20 16 09

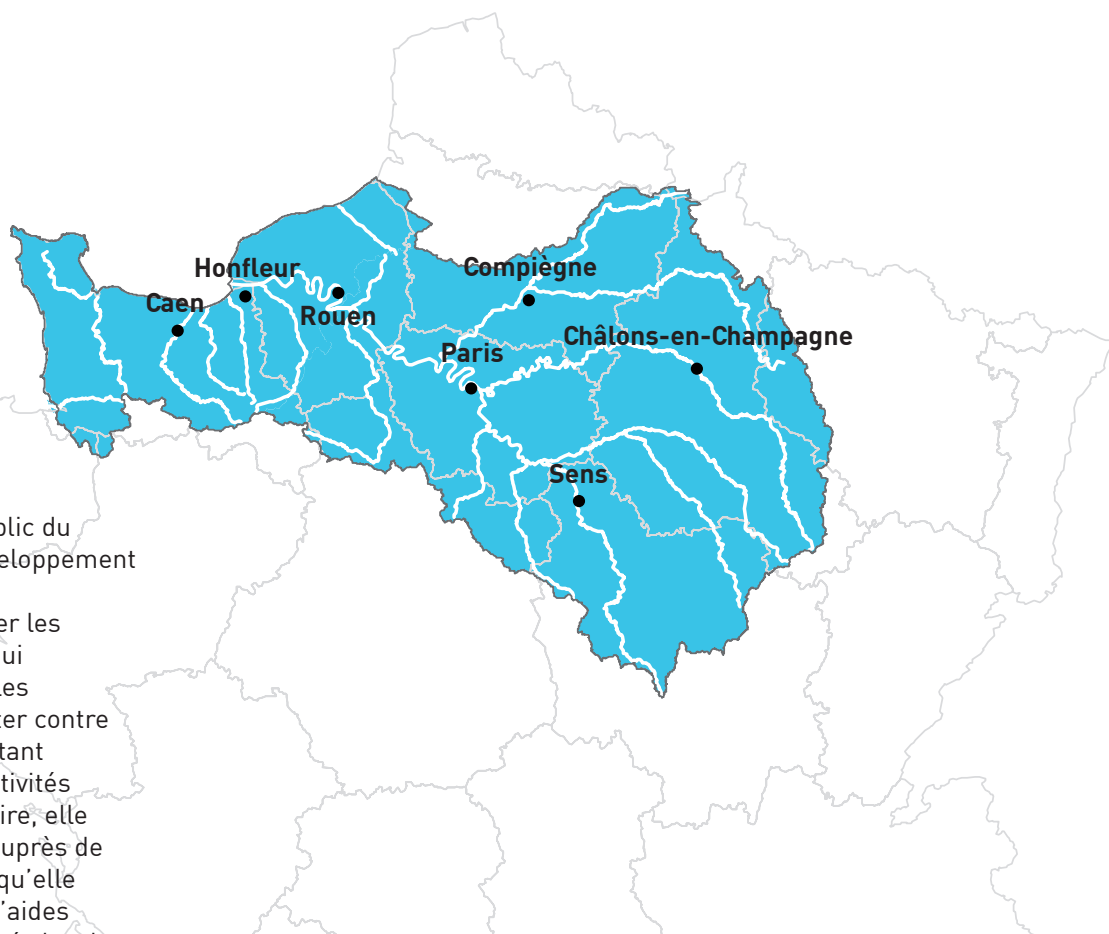
www.eau-seine-normandie.fr

Programme PIREN-Seine

Direction et secrétariat :
UMR CNRS 7619 Sisyphe
Université Pierre et Marie Curie (Paris VI)
4, place Jussieu 75005 Paris
Tél. 01 44 27 74 24
Fax 01 44 27 45 88

www.piren-seine.fr

ENSEMBLE
DONNONS
VIE À L'EAU
Agence de l'eau



Les PARTENAIRES du PIREN-Seine

AGENCE DE L'EAU SEINE-
NORMANDIE (AESN)
www.eau-seine-normandie.fr

CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)
www.cnrs.fr

DIRECTION RÉGIONALE ET
INTERDÉPARTEMENTALE DE
L'ENVIRONNEMENT ET DE L'ÉNERGIE
D'ÎLE-DE-FRANCE (DRIEE-IF)
www.driee.ile-de-france.developpement-durable.gouv.fr

EAU DE PARIS
www.eaudeparis.fr

INTERNATIONAL ZINC ASSOCIATION
(IZA)
www.iza.com

LYONNAISE DES EAUX
www.lyonnaise-des-eaux.fr

LES GRANDS LACS DE SEINE :
INSTITUTION INTERDÉPARTEMENTALE
DES BARRAGES-RÉSERVOIRS DU
BASSIN DE LA SEINE (IIBRBS)
www.iibrbs.fr

SYNDICAT DES EAUX
D'ÎLE-DE-FRANCE (SEDIF)
www.sedif.com

SYNDICAT INTERDÉPARTEMENTAL
POUR L'ASSAINISSEMENT DE
L'AGGLOMÉRATION PARISIENNE
(SIAAP)
www.siaap.fr

UNION NATIONALE DES PRODUCTEURS
DE GRANULATS (UNPG)
www.unicem.fr

VOIES NAVIGABLES DE FRANCE
(VNF)
www.vnf.fr

Numéro ISBN : 978-2-918251-11-8
Numéro ISSN : 1968-5734
Dépôt légal : décembre 2011

