

Utilisation des biomarqueurs pour la caractérisation de l'état écotoxicologique des masses d'eau

■ W. SANCHEZ¹, J.-M. PORCHER¹

Mots-clés : écotoxicologie, biomarqueurs, biosurveillance, directive cadre sur l'eau

Keywords: ecotoxicology, biomarkers, biomonitoring, Water Framework Directive

Introduction

Depuis de nombreuses années, les programmes de surveillance des milieux aquatiques s'articulent autour de deux approches complémentaires. La première est basée sur l'analyse chimique d'un certain nombre de polluants dans les matrices environnementales et permet d'évaluer la contamination du milieu. La seconde intègre l'occurrence et l'abondance d'espèces bio-indicatrices afin de diagnostiquer la qualité de l'eau et des biocénoses *a posteriori* d'une perturbation. Ces deux approches ne sont toutefois pas exclusives et ne permettent pas de prendre en considération les effets précoces de la contamination sur les organismes. Afin de combler cette lacune, les biomarqueurs apparaissent comme des outils pertinents. L'objectif de cet article est :

- de dresser un bilan du potentiel des biomarqueurs pour la surveillance des milieux aquatiques en s'appuyant sur différentes expériences ;
- et de proposer des pistes d'intégration de ces outils dans les politiques publiques actuelles.

1. Utilité des biomarqueurs : du concept à l'outil

1.1. Biomarqueurs : principes et concepts

Les biomarqueurs ont fait leur apparition en écotoxicologie au cours des années 1980. Initialement décrits comme la réponse d'une structure ou d'une fonction biochimique ou physiologique « normale »

à la présence d'un xénobiotique, la multiplication des travaux scientifiques autour de cette thématique a engendré de nombreuses définitions de la notion de biomarqueur [HUGGETT *et al.*, 1992 ; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1987 ; TIMBRELL *et al.*, 1994]. Nous retiendrons ici celle énoncée par [LAGADIC *et al.*, 1997] qui définit un biomarqueur comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance à caractère polluant.

Cette définition peut être complétée de plusieurs critères regroupant les informations importantes qui permettent d'évaluer les forces et les faiblesses de différents candidats biomarqueurs [STEGEMAN *et al.*, 1992 ; VAN DER OOST *et al.*, 2003] :

- les méthodes de mesure des biomarqueurs doivent être sensibles, précises et simples de mise en œuvre ;
- la réponse des biomarqueurs doit être rapide afin de pouvoir être considérée comme un paramètre d'alerte précoce ;
- les niveaux constitutifs et leurs variations, dues aux effets de facteurs physiologiques ou environnementaux, doivent être définis afin de distinguer la réponse induite par un contaminant de la variabilité naturelle ;
- les mécanismes qui supportent la relation entre la réponse des biomarqueurs et l'exposition aux contaminants doivent être connus. De ce fait, la notion de biomarqueur est amenée à évoluer avec les connaissances scientifiques ;
- la signification toxicologique des biomarqueurs, qui peut être décrite comme le lien entre la réponse biochimique et les effets sur les organismes, doit être connue.

¹ Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) – Unité d'écotoxicologie *in vitro* et *in vivo* – Parc technologique ALATA – BP 2 – 60550 Verneuil-en-Halatte.

Les biomarqueurs présentent l'avantage d'une évaluation, intégrée dans le temps, de l'exposition ou de l'effet des polluants environnementaux biodisponibles, qu'il s'agisse de molécules mères ou de produits de dégradation, seuls ou en mélange. Ils restituent, à un instant donné, une image intégrative des variations qualitatives et quantitatives de la contamination. Ils sont, de plus, susceptibles de refléter l'exposition des organismes à des polluants rapidement métabolisables et peu accumulables. Les espèces supports sélectionnées pour l'étude de la réponse des biomarqueurs peuvent, 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 [LAGADIC *et al.*, 1997 ; STEGEMAN *et al.*, 1992].

Les biomarqueurs présentent donc un caractère intégrateur important vis-à-vis des facteurs environnementaux, toxicologiques et écologiques, qui leur confère un indéniable avantage dans l'évaluation géographique et temporelle des effets associés à la contamination du milieu.

Ce caractère intégrateur des biomarqueurs est aussi une source de complexité. En effet, ces différents facteurs vont générer un « bruit de fond » susceptible de masquer le signal d'une perturbation causée par des polluants. Il apparaît donc nécessaire, pour une interprétation correcte des informations fournies par les biomarqueurs, de distinguer de cette variabilité naturelle, la réponse induite par un polluant [MC-CARTHY, 1990].

Toutefois, l'intérêt de la mesure des biomarqueurs a été montré dans le cas d'études amont-aval ou de profil de rivière. Ces approches fondées sur la comparaison de la réponse des biomarqueurs par rapport à un site situé en amont peuvent être considérées comme restrictives par rapport au fort potentiel des biomarqueurs [FLAMMARION, 1997]. Il apparaît donc nécessaire de s'affranchir de cette contrainte pour une application plus large des biomarqueurs dans un contexte de surveillance des écosystèmes. Cela revient donc à généraliser la connaissance relative des biomarqueurs acquise jusqu'à présent pour déterminer des plages naturelles de variations qui seraient valables pour un ou plusieurs bassins hydrographiques. Cette démarche rendra plus sûre l'interprétation des réponses en diminuant les

risques de faux positifs ou de faux négatifs liés, en particulier, aux interactions entre substances [MAYER *et al.*, 1992].

Un autre facteur limitant l'utilisation des biomarqueurs pour la surveillance des milieux est l'absence de preuve directe de leur prédictivité [MONOD, 1997]. Les biomarqueurs sont, en effet, des outils spécifiques et précoces. Or, quand on gagne en spécificité, en sensibilité et en précision, on risque de perdre en pertinence écologique. Ainsi, il n'existe que peu de données quant à la relation entre la réponse biochimique et les effets à long terme sur les organismes et les populations. De récents travaux menés en conditions contrôlées ou semi-contrôlées ont toutefois permis d'établir un lien entre l'exposition des individus à des contaminants, la réponse de variables biochimiques et des perturbations populationnelles [NASH *et al.*, 2004 ; MILLER *et al.*, 2007 ; KIDD *et al.*, 2007], offrant ainsi de nouvelles perspectives en terme d'utilisation des biomarqueurs.

1.2. Biomarqueurs et approches intégratives

Aucun biomarqueur ne peut, à lui seul, prendre en compte la diversité des contaminants et la multiplicité de leurs effets sur les organismes (*figure 1*). Ainsi, la mise en œuvre d'un ensemble cohérent de biomarqueurs s'est rapidement imposée afin d'établir un diagnostic complet de l'état de perturbation des organismes au sein de leur environnement [FLAMMARION *et al.*, 2002 ; GALLOWAY *et al.*, 2004a ; MINIER *et al.*, 2000 ; VAN DER OOST *et al.*, 1996]. Chaque biomarqueur constitutif de la batterie apporte alors une information en lien avec sa spécificité. Une sélection *a priori* des biomarqueurs doit être opérée afin d'éviter la redondance entre les biomarqueurs mis en œuvre et, par là même, de diminuer les coûts des études. Ce travail de sélection

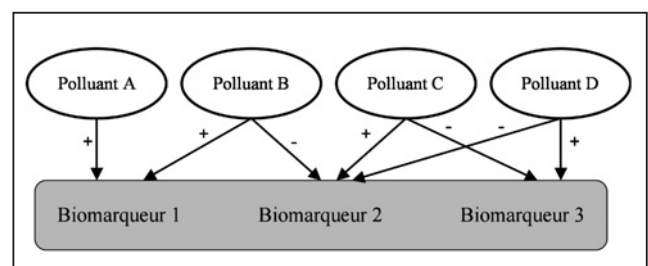


Figure 1. Intérêt d'une approche multibiomarqueurs pour prendre en compte la diversité des contaminants et la multiplicité de leurs effets

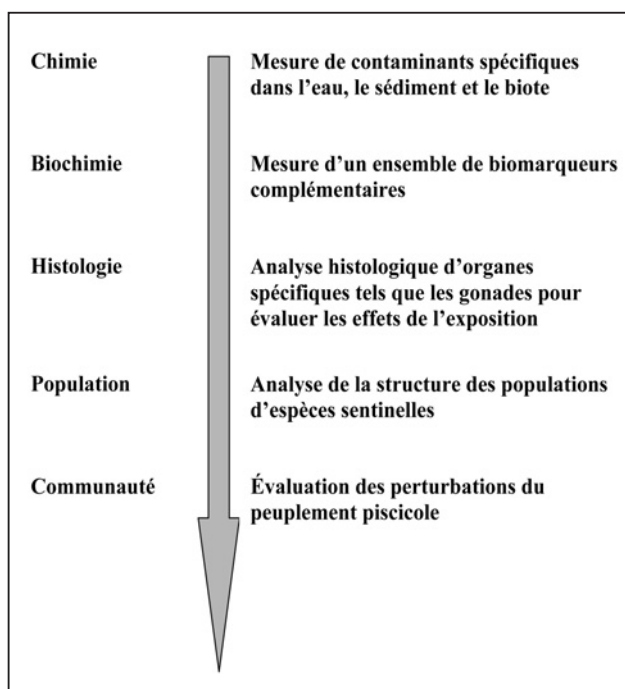


Figure 2. Approche basée sur le « poids des évidences » qui associe des mesures chimiques, biochimiques, histologiques et populationnelles, proposée par [SANCHEZ *et al.*, 2008] pour établir un lien entre les atteintes à différents niveaux d'organisation biologique dans les cours d'eau

doit alors s'appuyer sur la bonne connaissance des réponses des biomarqueurs. De plus, en fonction des objectifs des études, une sélection basée sur la spécificité des biomarqueurs doit être opérée.

Si l'utilisation d'un ensemble cohérent de biomarqueurs contribue à une meilleure caractérisation des effets précoces de la contamination sur les organismes, il semble illusoire d'établir un diagnostic de l'état de contamination des écosystèmes et des effets de cette contamination en s'appuyant uniquement sur la réponse des biomarqueurs. Ainsi, seule une approche multiparamétrique, combinant la mesure de différents biomarqueurs à des analyses chimiques et à des mesures au niveau des populations et des communautés, permet de prendre en considération la multiplicité des effets de la contamination sur les différents niveaux d'organisation biologique (figure 2).

2. Retour d'expérience sur l'utilisation des biomarqueurs

Le développement de l'écotoxicologie autour des biomarqueurs a conduit à la mise en place de nombreux programmes de recherche sur cette thématique, dont

certain très ambitieux, et dans une bien moindre mesure au développement de réseaux de surveillance intégrant ces outils.

2.1. Programme de développement et de validation des biomarqueurs

Des programmes de recherche nationaux et internationaux visant à valider ces outils dans un objectif de surveillance des milieux ont été développés. Contrairement aux réseaux pérennes de biosurveillance, ces études se caractérisent généralement par une faible emprise spatiale et temporelle. Il existe toutefois quelques études de grande envergure qui sont susceptibles d'apporter une information pertinente quant à l'utilisation des biomarqueurs pour la surveillance des effets de la contamination sur les organismes aquatiques. Par exemple, différents programmes européens tels que Biomar, BEEP et Modelkey se sont attachés à l'évaluation du potentiel d'un certain nombre de biomarqueurs pour la surveillance des milieux aquatiques et au développement de stratégies globales d'évaluation du risque environnemental intégrant les biomarqueurs. De même, un certain nombre de programmes nationaux ont été développés à travers l'Europe avec le même objectif (par exemple, le programme Ecoman au Royaume-Uni, le programme Valimar en Allemagne). Ces programmes de recherche appliquée ont permis de mettre en avant le potentiel et l'applicabilité de certains biomarqueurs pour évaluer l'état de santé des organismes vivant en milieu naturel. De plus, ils permettent de proposer des stratégies pratiques d'utilisation de ces outils écotoxicologiques pour la surveillance des milieux aquatiques. C'est par exemple le cas du projet Ecoman mis en œuvre au Royaume-Uni qui, suite à la mesure d'un ensemble de biomarqueurs chez des invertébrés marins, a permis de proposer une méthodologie pour l'utilisation en routine des biomarqueurs dans un objectif de surveillance des milieux estuariens et côtiers. Cette méthodologie s'appuie sur quatre étapes avec :

- une sélection des sites basée sur le recueil d'informations relatives au type d'habitat, aux pressions exercées et aux données disponibles ;
- une sélection des espèces utilisées s'appuyant sur leur occurrence sur les sites d'étude, leur pertinence écologique et la disponibilité des méthodes d'analyse ;

- des analyses combinant la mesure des biomarqueurs à des analyses chimiques qui permettent d'établir un premier diagnostic de l'état de dégradation des milieux ;
- des analyses associant biomarqueurs, mesures chimiques et études écologiques afin de préciser la nature et les effets de la contamination sur les sites les plus dégradés.

Ces différents programmes de recherche ont contribué à la proposition d'outils et de stratégies de surveillance de la contamination des milieux aquatiques et de ses effets intégrant les biomarqueurs. D'une manière générale, il apparaît que les biomarqueurs peuvent être intégrés dans une approche multiparamétrique fondée sur le poids des évidences où ils représentent une composante importante permettant de considérer les effets de la contamination sur les organismes. Dans ce contexte, les biomarqueurs les plus prometteurs semblent être des paramètres pour lesquels nous disposons d'une bonne connaissance sur leur sensibilité, sur les effets de facteurs confondants et sur la signification de la réponse. De ce fait, on peut citer des biomarqueurs utilisés depuis de nombreuses années en écotoxicologie comme l'activité enzymatique 7-éthoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD), les métallothionéines, l'acétylcholinestérase ou encore la vitellogénine.

2.2. Vers la caractérisation de l'état du milieu

À côté de ces programmes méthodologiques, des projets nationaux ont utilisé les biomarqueurs afin d'évaluer la contamination et ses effets sur les organismes. C'est par exemple le cas du programme LOES, mis en œuvre aux Pays-Bas pour établir un diagnostic de la contamination des eaux du pays par les perturbateurs endocriniens et qui s'appuyait, en complément d'analyses chimiques, sur la mesure de la vitellogénine et sur l'analyse histologique des gonades. Ce programme concluait alors sur la large contamination des écosystèmes aquatiques néerlandais par les perturbateurs endocriniens et formulait des recommandations techniques pour les futurs programmes de surveillance en préconisant le recours à des approches multifactorielles incluant le dosage de la vitellogénine [VETHAAK *et al.*, 2005]. D'autres programmes nationaux similaires menés à travers

l'Europe sont également arrivés à des conclusions analogues pour la mise en œuvre des programmes de surveillance des milieux aquatiques [ALLEN *et al.*, 2002 ; TARRANT *et al.*, 2005].

En France, l'agence de l'eau Adour-Garonne a financé en 2001 le programme Fish Bio [MORA *et al.*, 2003]. Ce projet avait pour objectif d'appliquer une approche multibiomarqueurs basée sur la mesure, chez le chevaine, le barbeau et la truite arc-en-ciel, des activités EROD, glutathion-S-transférase, catalase et acétylcholinestérase. En combinant la mesure des biomarqueurs à des analyses chimiques des contaminants dans le milieu et dans les poissons, le programme Fish Bio a permis une meilleure caractérisation de la contamination des 11 sites d'étude. Cette étude concluait alors sur l'intérêt des biomarqueurs pour la caractérisation de la contamination des milieux aquatiques continentaux et sur la nécessité d'utiliser un nombre plus important de variables biologiques, afin de mieux cerner cette contamination.

Malgré les préconisations des études de recherche, peu de réseaux pérennes de surveillance des milieux aquatiques intègrent les biomarqueurs. En milieu continental, le réseau américain BEST-LRMN (Bio-monitoring of Environmental Status and Trends – Large Rivers Monitoring Network) apparaît comme l'unique réseau national qui utilise les biomarqueurs pour évaluer la contamination de l'environnement par des contaminants persistants et pour détecter des changements à de faibles niveaux d'organisation biologique avant que des effets populationnels soient visibles [BAUCH *et al.*, 2005]. Ce réseau a pour objectif d'évaluer la santé des poissons dans différents bassins versants (Mississippi, Rio Grande, Yukon...) en mettant en œuvre un ensemble de marqueurs mesurés au niveau de l'organisme ou à des niveaux d'organisation inférieurs [SCHMITT *et al.*, 2005 ; HINCK *et al.*, 2006, 2007]. Les paramètres mesurés incluent la concentration de contaminants dans les organismes, des indicateurs de santé des poissons (facteur de condition, indices somatiques, activité de biotransformation, paramètres d'agrégation des macrophages) et des marqueurs liés à la fonction de reproduction (hormones stéroïdiennes, vitellogénine, histologie de la gonade) parmi lesquels figurent des

biomarqueurs biochimiques (*tableau I*). Les paramètres sélectionnés sont choisis pour intégrer la réponse des organismes à différents niveaux d'organisation biologique. L'exploitation spatiale et temporelle des données obtenues permet d'examiner les variations des différents contaminants et des effets précoces de la contamination sur les poissons. L'exploitation des résultats est rendue difficile du fait de l'influence de facteurs biotiques (maturité sexuelle, statut alimentaire, âge...) et abiotiques (saison, température, pH...) sur la réponse des biomarqueurs et du manque de données scientifiques sur les effets de ces facteurs [Hinck, comm. pers.]. On notera toutefois que pour certains biomarqueurs utilisés de longue date en écotoxicologie (par exemple : acétylcholinestérase, EROD, metallothionéines), il existe de nombreuses données sur les sources de variabilité naturelle de ces paramètres chez diverses

espèces sentinelles [HAGGER *et al.*, 2006]. Dans ce contexte, le réseau BEST-LRMN représente toutefois un terrain expérimental de choix pour appréhender l'influence des facteurs environnementaux sur la réponse des marqueurs utilisables pour la surveillance des milieux aquatiques.

Plusieurs marqueurs biochimiques ont également été utilisés en milieu marin dans le programme JAMP (Joint Assessment and Monitoring Programme) développé dans le cadre de la convention OSPAR et dans le programme MEDPOL proposé dans le cadre du Programme des Nations unies pour l'environnement (*tableau I*). Ces deux programmes ont permis d'acquérir un ample jeu de données couvrant une large zone géographique et incluant le suivi dans l'espace et dans le temps de différents biomarqueurs mesurés chez le poisson. Ils ont également mis en avant la nécessité d'encadrer les programmes de biosurveillance

Biomarqueur	Programme*	Description	Contaminants détectés
Activité EROD	J, M, B, N	Enzyme de biotransformation induite par les hydrocarbures planaires	PCB, HAP et composés similaires à la dioxine
Activité acétylcholinestérase (AChE)	J	Enzyme impliquée dans la transmission nerveuse	Organophosphates, carbamates et molécules similaires
Vitellogénine (VTG)	J, B, N	Précurseur des réserves nutritives de l'œuf normalement synthétisé par la femelle	Perturbateurs endocriniens œstrogéno-mimétiques
Métallothionéine (MT)	J, M, N	Piégeur de métaux, protection contre le stress oxydant	Métaux lourds et inducteurs de stress oxydant
Acide delta-amino-lévolulinique déshydratase (ALAD)	J	Enzyme impliquée dans le métabolisme des acides aminés	Plomb majoritairement
Stabilité des lysosomes	J	Les lysosomes jouent un rôle dans les lésions du foie causées par les xénobiotiques	Marqueur général de santé
Dommages à l'ADN	J, M, N	Altération de la structure de l'ADN	Composés génotoxiques (HAP et autres molécules organiques de synthèse)
Activité du lysozyme	B	Facteur de résistance à la maladie	Marqueur général de santé
Analyse de l'agrégation des macrophages	B	Première ligne de défense du système immunitaire	Contaminants multiples (HAP, métaux)

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques ; PCB : polychlorobiphényles.

*B : programme BEST ; J : programme JAMP de la convention OSPAR ; M : programme MEDPOL du Programme des Nations unies pour l'environnement (PNUJ) ; N : National Marine Monitoring Programme of Sweden.

Tableau I. Présentation des biomarqueurs utilisés pour évaluer l'état de santé et le statut toxicologique des poissons dans des réseaux de surveillance de l'environnement

par des programmes d'assurance qualité et par des exercices d'intercalibration permettant d'assurer la validité des résultats recueillis. De plus, dans le cadre des programmes de la convention OSPAR, il a été montré la nécessité d'appuyer la surveillance de la qualité des milieux aquatiques sur une approche spatio-temporelle intégrée qui combine des analyses chimiques et le suivi des effets biologiques à différents niveaux d'organisation, aussi bien dans l'eau et dans le sédiment que dans les organismes [HYLLAND, 2008].

De même, en Suède, le NMMP (National Marine Monitoring Programme) intègre depuis 1992 la mesure de biomarqueurs (tableau I) chez la perche et la loquette d'Europe, afin de suivre à long terme les effets de la contamination de la mer Baltique sur les organismes [HANSON, 2009]. Dans le cadre de ce programme, la mesure d'un ensemble de biomarqueurs incluant l'activité EROD, les métallothionéines, les adduits à l'ADN, la teneur en vitellogénine, mais également des enzymes antioxydantes vient compléter des dosages de contaminants organiques et métalliques dans les poissons, ainsi que l'étude des populations et de la communauté de poissons.

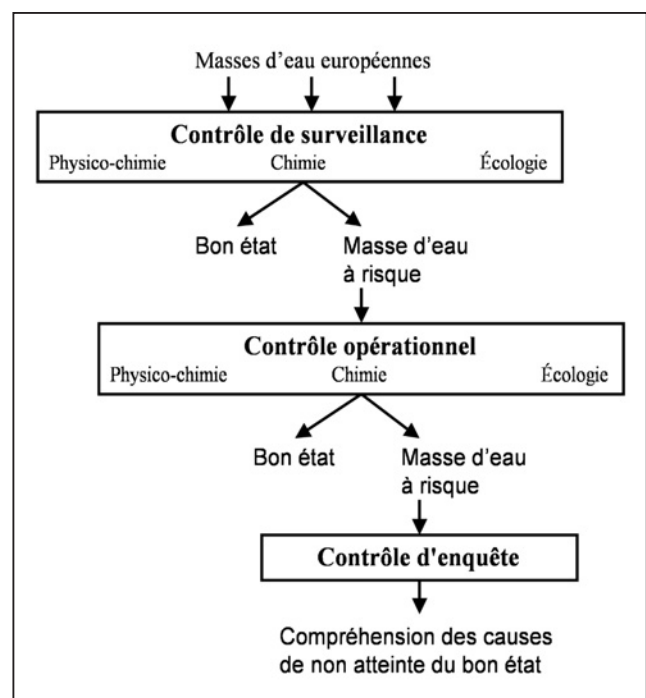
Ces différentes expériences mettent en avant l'intérêt des biomarqueurs pour la caractérisation de la contamination et de ses effets chez le poisson. Elles montrent également la faisabilité d'une approche multi-biomarqueurs, à grande échelle, chez le poisson et l'intérêt de celle-ci pour la caractérisation écotoxicologique des milieux aquatiques.

3. Biomarqueurs et directive cadre sur l'eau

En 2000, le Parlement européen et le Conseil de l'Union européenne ont adopté la directive cadre sur l'eau (2000/60/EC). Ce texte, dont le principal objectif est l'atteinte du bon état chimique et écologique de l'ensemble des masses d'eaux européennes, apparaît comme un élément majeur dans la législation européenne de l'environnement. Aussi, il semble indispensable de positionner les biomarqueurs par rapport aux exigences de cette directive, afin que ces outils puissent trouver une place légitime dans la procédure d'évaluation de la qualité des milieux aquatiques.

3.1. Quelle place pour les biomarqueurs dans la directive cadre sur l'eau ?

L'annexe 5 de la directive cadre européenne sur l'eau recommande la mise en œuvre de trois catégories de programmes de surveillance des masses d'eau (figure 3) avec des contrôles de surveillance pour assurer le suivi à long terme des changements de la qualité de l'eau, des contrôles opérationnels qui permettent le recueil des données pour des masses d'eau dites à risques et des contrôles d'enquête permettant la recherche des causes de dégradation de la qualité du milieu. Ces différents programmes de suivi de la qualité de l'eau sont basés sur la mesure de paramètres chimiques et écologiques. Toutefois, les biomarqueurs doivent être considérés comme des outils complémentaires qui apportent une information relative à l'état de santé des poissons, qui intègrent la biodisponibilité des polluants et qui sont susceptibles de renseigner sur la cause éventuelle d'effets observés à des niveaux supérieurs d'organisation [VASSEUR et COSSU-LEGUILLE, 2003].



Le contrôle de surveillance concerne une sélection de masses d'eau à risque et sans risque. Le contrôle opérationnel se focalise exclusivement sur les masses d'eau à risque préalablement identifiées. Le contrôle d'enquête se focalise également sur les masses d'eau à risque afin d'identifier les causes de non-atteinte du bon état. **Figure 3. Présentation des différents types de contrôle préconisés par la directive cadre sur l'eau (d'après [HAGGER *et al.*, 2006 ; ALLAN *et al.*, 2006])**



Figure 4. Prélèvement de poissons par pêche à l'électricité en vue de l'analyse des biomarqueurs

Du fait de cette complémentarité, les biomarqueurs peuvent trouver une place légitime dans les différents types de programmes de contrôle de la qualité de l'eau en permettant l'identification d'effets biologiques précoces [VASSEUR et COSSU-LEGUILLE, 2003] ou de sources de contamination [GAL-

LOWAY *et al.*, 2004a], en précisant le lien entre exposition des organismes et effets sur les organismes [GALLOWAY *et al.*, 2004b], en participant à la compréhension de liens éventuels entre la contamination chimique et les effets écologiques [AU, 2004 ; VAN DER OOST *et al.*, 2003]. Une application aussi exhaustive des biomarqueurs aurait alors des implications économiques fortes en augmentant considérablement le coût des programmes de surveillance. Une application raisonnée des biomarqueurs pourrait être envisagée selon deux axes :

- dans le cadre du contrôle d'enquête, afin de prendre en considération les effets éventuels de la contamination sur les organismes, d'orienter des analyses chimiques complémentaires et donc de permettre une meilleure caractérisation du risque lié à la zone considérée ;
- lorsque les analyses chimiques ne mettent pas en évidence de dégradation de la qualité chimique du milieu, qu'il y ait ou non une dégradation de la qualité écologique des cours d'eau. Une telle approche permettrait alors d'orienter d'éventuelles analyses chimiques complémentaires afin d'identifier une contamination potentielle par des polluants non recherchés en première intention. Elle serait particulièrement pertinente en utilisant des biomarqueurs spécifiques. C'est le cas, par exemple, pour les perturbateurs endocriniens où la recherche de composés spécifiques pourrait être entreprise suite à la détection d'induction de vitellogénine (c'est-à-dire pour les œstrogènes) et/ou de *spiggin* (pour les androgènes) chez les poissons.

3.2. Expérience en cours sur le bassin Artois-Picardie

Actuellement, une étude qui intègre des outils écotoxicologiques, dont les biomarqueurs, sur le réseau de contrôle de surveillance de la directive cadre sur l'eau, est en cours sur le bassin de l'agence de l'eau Artois-Picardie. Celle-ci vise à caractériser, sur les 24 stations du réseau de contrôle de surveillance et sur les sept stations de référence du bassin, la contamination des milieux aquatiques par des micropolluants métalliques et organiques, ainsi que par des perturbateurs endocriniens, et à en évaluer l'incidence sur la faune piscicole. Pour atteindre cet objectif, trois espèces de poissons ont été retenues avec le gardon, qui est un modèle biologique reconnu en écotoxicologie de terrain, le chabot, qui est un poisson largement distribué sur cette zone géographique et qui semble pertinent d'un point de vue écotoxicologique, ainsi que l'épinoche à trois épines qui, bien que présente sur un nombre limité de sites, apporte une information pertinente quant à l'exposition des organismes à des composés androgéniques. Une batterie de huit biomarqueurs destinés à mettre en évidence des phénomènes de biotransformation des polluants organiques, de stress oxydant, de neurotoxicité et de perturbation endocrinienne, sera appliquée chez les espèces citées afin d'évaluer les effets de la contamination chez le poisson. La mesure de ces biomarqueurs sera accompagnée de dosages hormonaux et d'analyses histologiques au niveau du tissu gonadique. *In fine*, la mise en relation des données biologiques avec les données chimiques (relatives aux niveaux de contaminations des eaux, des sédiments et des poissons) acquises par l'agence de l'eau dans le cadre du réseau de surveillance, et avec les données écologiques relatives au peuplement piscicole collectées par l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Onema), devrait permettre une meilleure caractérisation des effets de la contamination des milieux aquatiques sur les organismes. Ce travail permettra également de mieux comprendre les mécanismes de transferts des polluants depuis les sédiments vers la colonne d'eau et vers le poisson ainsi que le lien éventuel entre les effets précoces chez le poisson et les atteintes au niveau populationnel.

Conclusions et perspectives

Les programmes nationaux et européens menés sur la thématique des biomarqueurs et de la bio-surveillance témoignent d'un important effort de recherche pour développer et valider des biomarqueurs permettant la caractérisation de la contamination des milieux et de ses effets sur les organismes, mais également pour proposer des approches de bio-surveillance intégratives combinant les biomarqueurs à d'autres approches conventionnelles ou émergentes. Ces travaux de recherche ont indéniablement contribué à l'intégration de biomarqueurs bien caractérisés tels que la vitellogénine, mais également l'activité EROD, les métallothionéines ou encore l'acétylcholinestérase, dans des programmes visant à dresser un état des lieux de la contamination de l'environnement aquatique. Toutefois, force est de constater qu'il n'existe que peu de réseaux de surveillance de l'environnement qui intègrent les biomarqueurs. Et le réseau américain BEST-LRMN demeure le seul exemple en milieu continental. Malgré cela, les biomarqueurs sont des outils d'ores et déjà applicables pour la surveillance des milieux aquatiques. Ils peuvent intégrer une approche de type « poids des

évidences » combinant analyses chimiques dans le milieu et dans le biote, des mesures biochimiques, des analyses histopathologiques et des études sur les populations et les communautés à l'image des recommandations issues du programme Ecoman et du retour d'expérience suite aux 30 années de suivi dans le cadre du NMMP. Une telle approche semble particulièrement prometteuse dans le cadre des contrôles d'enquête de la directive cadre sur l'eau où elle pourrait contribuer efficacement à la recherche des causes de non-respect du bon état par la caractérisation de l'état écotoxicologique des masses d'eau. Se pose alors la question de la faisabilité technique d'une telle démarche, c'est-à-dire de l'existence de structures capables de réaliser les analyses associées.

Remerciements

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier du ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de l'Aménagement du territoire (Programme 181-DRC43) et de l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (Convention cadre de coopération Onema-Ineris 2008).

Bibliographie

ALLAN I.J., VRANA B., GREENWOOD R., MILLS G.A., ROIG B., GONZALEZ C., 2006 : « A "toolbox" for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive ». *Talanta*, 69: 302-322.

ALLEN Y., BALAAM J., BAMBER S., BATES H., BEST G., BEGNELL J., et al., 2002 : *Final report: Endocrine Disruption in the Marine Environment* (EDMAR), pp. 67.

AU D.W.T., 2004 : « The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review ». *Marine Pollution Bulletin*, 48: 817-834.

BAUCH N.J., SCHMITT C.J., CRAWFORD C.G., 2005 : « Development of an approach for integrating components of the US Geological Survey Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) and National Stream Quality Accounting Network (NASQAN) programs for a large US rivers ». *US Geological Survey*, Columbia. 53 p.

FLAMMARION P. 1997 : *Mesure in situ de l'induction du cytochrome P450 1A chez des cyprinidés d'eau douce. Optimisation de l'interprétation*. Thèse, université de Metz, pp. 107 + annexes.

FLAMMARION P., DEVAUX A., NEHLS S., MIGEON B., NOURY P., GARRIC J., 2002b : « Multibiomarker responses in

fish from the Moselle river (France) ». *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51: 145-153.

GALLOWAY T.S., BROWN R.J., BROWNE M.A., DISSANAYAKE A., LOWE D., JONES M.B., DEPLEDGE M.H., 2004a : « A multibiomarker approach to environmental assessment ». *Environmental Science and Technology*, 38: 1723-1731.

GALLOWAY T.S., BROWN R.J., BROWNE M.A., DISSANAYAKE A., LOWE D., JONES M.B., DEPLEDGE M.H., 2004b : « Ecosystem management bioindicators: the ECOMAN project – a multi-biomarker approach to ecosystem management ». *Marine Environmental Research*, 58: 233-237.

HAGGER J.A., JONES M.B., LEONARD D.P., OWEN R., GALLOWAY T.S., 2006 : « Biomarkers and integrated environmental risk assessment: are there more questions than answers? » *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2: 312-329.

HANSON N., 2009 : « Utility of biomarkers in fish for environmental monitoring ». *Integrated Environmental Assessment and Management*, 5: 180.

HINCK J.E., SCHMITT C.J., BLAZER V.S., DENSLow N.D., BARTISH T.M., ANDERSON P.J., COYLE J.J., DETHLOFF G.M., TILLITT D.E., 2006 : « Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Columbia River

- and its tributaries: Spatial and temporal trends ». *Science of The Total Environment*, 366: 549-578.
- HINCK J.E., BLAZER V.S., DENSLow N.D., ECHOLS K.R., GROSS T.S., MAY T.W., ANDERSON P.J., COYLE J.J., TILLITT D.E., 2007 : « Chemical contaminants, health indicators, and reproductive biomarker responses in fish from the Colorado River and its tributaries ». *Science of The Total Environment*, 378: 376-402.
- HUGGETT R., KIMERLE R.A., MEHRLE P.M., BERGMANN H.L. 1992 : *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis Publisher, Chelsea, 347 pp.
- HYLLAND K., 2008 : *Integrated chemical and biological monitoring of the marine environment – the OSPAR approach*. NORMAN Workshop – integrated chemical and bio-monitoring strategies for risk assessment of emerging substances, Lyon, France, May 2008.
- KIDD K.A., BLANCHFIELD P.J., MILLS K.H., PALACE V.P., EVANS R.E., LAZORCHAK J.M., FLICK R.W., 2007 : « Collapse of fish population after exposure to a synthetic estrogen ». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 : 8897-8901.
- LAGADIC L., CAQUET T., AMIARD J.C., 1997 : « Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions ». In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., eds., *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux*. Paris, Masson, pp. 1-9.
- MAYER F.L., VERSTEEG D.J., MAC KEE M.J., FOLMAR L.C., GRANAY R.L., MAC CUMIE D.C., RATTNER B.A., 1992 : « Physiological and nonspecific biomarkers ». In : Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M., Bergman H.L., eds., *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis Publisher, Chelsea, pp. 5-86.
- MCCARTHY J.F., 1990 : « Implementation of a biomarker-based environmental monitoring program ». In : McCarthy J.F., Shugart L.R., eds., *Biomarkers of environmental contamination*. Lewis Publisher, Boca Raton, pp. 429-440.
- MILLER D.H., JENSEN K.M., VILLENEUVE D.L., KAHL M.D., MAKYNEN E.A., DURHAN E.J., ANKLEY G.T., 2007 : « Linkage of biochemical responses to population-level effects: a case study with vitellogenin in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) ». *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26: 521-527.
- MINIER C., LEVY F., RABEL D., BOCQUENE G., GODEFROY D., BURGEOT T., LEBOULENGER F., 2000 : « Flounder health status in the Seine Bay. A multibiomarker study ». *Marine Environmental Research*, 50: 373-377.
- MONOD G., 1997 : « Les biomarqueurs d'exposition », Séminaire national *Les variables biologiques : des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes aquatiques*. Ministère de l'Environnement, 2-3 novembre 1994, CEMAGREF éditions, pp. 145-148.
- MORA P., AARAB N., DAUBEZE M., NARBONNE J.F., BUDZINSKI H., LEMENAH K., AUGAGNEUR S., GARRIGUES P., 2003 : *Contamination chimique et biomarqueurs chez le poisson : le projet FIBIO*. Agence de l'Eau Adour-Garonne, 59 p.
- NASH J.P., KIME D.E., VAN DER VEN L.T.M., WESTER P.W., BRION F., MAACK G., STAHLSCHEIDT-ALLNER P., TYLER C.R., 2004 : « Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical ethynylestradiol causes reproductive failure in fish ». *Environmental Health Perspectives*, 112 : 1725-1733.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1987 : « Biological markers in environmental health research ». *Environmental Health Perspectives*, 74: 3-9.
- SANCHEZ W., KATSIADAKI I., PICCINI B., DITCHE J.M., PORCHER J.M., 2008 : « Biomarker responses in wild three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a useful tool for freshwater biomonitoring: a multiparametric approach ». *Environment International*, 34 : 490-498.
- SCHMITT C.J., ELLEN HINCK J., BLAZER V.S., DENSLow N.D., DETHLOFF G.M., BARTISH T.M., COYLE J.J., TILLITT D.E. 2005 : « Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Rio Grande and its U.S. tributaries: Spatial and temporal trends ». *Science of The Total Environment*, 350: 161-193.
- STEGEMAN J.J., BROUWER M., RICHARD T.D.G., FÖRLIN L., FOWLER B.A., SANDERS B.M., VAN VELD P.A., 1992 : « Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect ». In : Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M., Bergman H.L., eds., *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress*. Lewis Publisher, Chelsea, pp. 235-335.
- TARRANT H., LLEWELLYN N., LYONS A., TATTERSALL N., WYLDE S., MOUZAKITIS G., MALONEY M., MCKENZIE C., 2005 : *Endocrine disruption in the Irish aquatic environment - Final report*. Environmental Protection Agency, Wexford, Ireland, 178 p.
- TIMBRELL J.A., DRAPPER R., WATERFIEL C., 1994 : « Biomarkers in toxicology: new uses for old molecules ». *Toxicology and Ecotoxicology News*, 1: 4-14.
- VAN DER OOST R., BEYERB J., VERMEULEN N. 2003 : « Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review ». *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13: 57-149.
- VAN DER OOST R., GOKSØYR A., CELANDER M., HEIDA H., VERMEULEN N.P.E., 1996 : « Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). II. Biomarkers: pollution-induced biochemical responses ». *Aquatic Toxicology*, 36: 189-222.
- VASSEUR P., COSSU-LEGUILLÉ C., 2003 : « Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety ». *Environment International*, 28: 711-717.
- VETHAACK A.D., LAHR J., SCHRAP S.M., BELFROID A.C., RIJS G.B.J., GERRITSEN A., DE BOER J., BULDER A.S., GRINWIS G.C.M., KUIPER R.V., 2005 : « An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands ». *Chemosphere*, 59: 511-524.

Résumé

W. SANCHEZ, J.-M. PORCHER

Utilisation des biomarqueurs pour la caractérisation de l'état écotoxicologique des masses d'eau

Au cours des 25 dernières années, de nombreux biomarqueurs ont été développés dans un objectif de biosurveillance des milieux aquatiques. Récemment, la directive cadre sur l'eau (DCE) de l'Union européenne précisait les programmes de surveillance requis pour évaluer l'atteinte du bon état chimique et écologique des masses d'eau en

2015. En s'appuyant sur les expériences nationales et internationales antérieures, cet article dresse un bilan du potentiel des biomarqueurs pour évaluer le statut écotoxicologique des milieux aquatiques dans le cadre des programmes de surveillance de la DCE.

Abstract

W. SANCHEZ, J.-M. PORCHER

Use of biomarkers for characterisation of water body ecotoxicological status

In the past 25 years, numerous biomarkers have been developed with the objective to apply them to aquatic ecosystem biomonitoring. Recently, the Water Framework Directive (WFD) of the European union specified monitoring programs required to assess the achievement of good chemical and eco-

logical status for all water bodies by 2015. This article reviews the potential of biomarkers for ecotoxicological status assessment in WFD monitoring programmes based on previous national and international experiments.