

Outils décisionnels dans la gestion des pollutions accidentelles des cours d'eau : vers des solutions écologiquement durables

Isabelle Laffont-Schwob ^a, Xavier Moreau ^a, Véronique Masotti ^a, Carole Di Giorgio ^b,
Laetitia De Jong-Moreau ^a, Jacques Rabier ^a, Michel De Méo ^b, Caroline Martin-Chauvin ^c,
Luc Sarrazin ^b, Fabienne Rousset ^d et Alain Thiéry ^a

Pour dépolluer des milieux suite à une pollution industrielle accidentelle, il est nécessaire de préciser les objectifs à atteindre et de délimiter la zone d'action. Cette démarche s'inscrit généralement dans la durée lorsque le vivant est inclus dans l'objectif de dépollution. Les analyses physico-chimiques (oxygène, conductivité, pH¹, DCO², DBO₅³, MES⁴, métaux lourds, HAPs⁵...) du milieu qualifient et quantifient l'importance de la pollution mais ne donnent pas d'information sur l'impact de celle-ci sur le vivant. Pour en établir un diagnostic fiable, il est important de bien choisir les descripteurs. Comme la définition des indicateurs est variable selon les institutions ou auteurs, définition qui est fonction des objectifs et du public concerné, ils reçoivent des appellations très diverses : variables, mesures, paramètres, indices. Dans le cadre de notre étude, nous adaptons la terminologie de l'OCDE⁶ (1999, 2001), avec en particulier une notion bivalente des indicateurs :

– des *indicateurs d'état* et des *indicateurs de pression* qui fournissent des renseignements sur

les potentialités du milieu naturel ou impacté, et qui décrivent l'évolution des caractéristiques du milieu récepteur, souvent révélateurs d'autres variables plus difficiles d'accès (caractérisation de l'état du système) ;

– des *indices de réponse* ou des *indices de suivi* qui visent à évaluer d'une part, l'importance des impacts constatés, et d'autre part, dans quelle mesure les modifications de pratique et/ou les programmes d'action mis en œuvre ont atteint leur objectif. Dans ce cadre, les indices d'état et de réponse sont des repères, des outils d'aide à la décision. Un ensemble de normes écotoxicologiques⁷ existe en France et permet d'estimer l'impact de pollutions sur le monde animal et végétal. Le diagnostic doit répondre à la nécessité d'établir la situation de départ et constitue la première étape des actions à mener. Il se conçoit sous la forme d'un inventaire d'informations recueillies sur le terrain qui vont contribuer à clarifier les objectifs. Dans une démarche de développement durable, cela implique d'avoir également une vision

1. Potentiel hydrogène.
2. Demande chimique en oxygène.
3. Demande biochimique en oxygène sur cinq jours.
4. Matières en suspension.
5. Hydrocarbures aromatiques polycycliques.
6. Organisation de coopération et de développement économiques.
7. L'écotoxicologie est l'étude du devenir et des effets des agents toxiques dans les écosystèmes.

Les contacts

- a. UMR CNRS/IRD 6116, Institut méditerranéen d'écologie et de paléoécologie (IMEP), équipe « Biomarqueurs et bioindicateurs environnementaux », Université de Provence, 3 place Victor Hugo, case 97, 13331 Marseille Cedex 3
- b. EA 1784, Laboratoire de biogénotoxicologie et mutagenèse environnementale et Laboratoire d'hydrologie et de molysmologie aquatique, Université de la Méditerranée, 27 bd Jean Moulin, 13385 Marseille Cedex 5
- c. UMR-CNRS/IRD 6116, Institut méditerranéen d'écologie et de paléoécologie (IMEP), équipe « Biomarqueurs et bioindicateurs environnementaux », Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, 33 rue Louis Pasteur 84000 Avignon
- d. Police de l'eau, Direction départementale de l'agriculture et de la forêt des Bouches-du-Rhône (DDAF 13), 154 avenue de Hambourg, BP 247, 13285 Marseille Cedex 8

8. La biocénose est l'ensemble des êtres vivants au sein d'un biotope donné (compartiment environnemental donné).

9. Association française de normalisation.

10. *International Organization for Standardization*, organisation internationale de normalisation

globale de la biocénose⁸ et de distinguer les risques induits par ces pollutions à court et à long terme.

Lors du constat d'une pollution des eaux, les services de police de l'eau peuvent procéder à des prélèvements qui, après analyse, permettront d'identifier le ou les polluants et d'estimer les volumes. Ils mettent en demeure ou dressent un procès-verbal de pollution à l'encontre du responsable lorsque celui-ci est identifié. Leur mission s'est récemment enrichie d'une mission de réhabilitation suite à la nouvelle loi sur l'eau (encadré 1). Par conséquent, des réflexions sur la qualité de l'eau et ses indicateurs régionaux sont menées. Les collaborations de la police de l'eau avec des équipes de recherche spécialisées dans l'étude de marqueurs de pollution permettent d'affiner les diagnostics de terrain et d'envisager des perspectives de restauration des milieux impactés.

Actuellement, les gestionnaires et les scientifiques se doivent d'aborder la gestion des milieux dans l'optique du développement durable et d'une restauration des milieux perturbés, lorsqu'elle est encore envisageable. Les acteurs de terrain expriment un besoin de concepts et de méthodes d'évaluation pour faciliter la mise en œuvre de ces interventions et permettre une évaluation fonctionnelle et socio-économique (Clewell et Rieger, 1997). Une analyse des divers projets de restauration de zones humides en France, faisant référence, montre que, généralement, les opérations de suivi ne bénéficient pas de moyens conceptuels adéquats (Bazin et Barnaud, 2002). Or, la restauration des écosystèmes doit s'appuyer sur un ensemble de connaissances scientifiques solides (Aronson *et al.*, 2009).

Dans ce contexte, le présent article se propose de développer une approche multidisciplinaire

pour un diagnostic des risques induits sur le vivant dans les cours d'eau en s'appuyant sur notre expérience en région méditerranéenne. L'utilisation conjointe de tests normalisés et de nouveaux tests non normalisés permettra d'obtenir différents niveaux de réponses écotoxicologiques, l'idée à terme étant de s'orienter vers un panel de tests écotoxicologiques pertinents dans ces milieux et utilisable sous la forme d'un kit d'intervention par les acteurs de terrain.

Choix des descripteurs (figure 1)

Normes AFNOR⁹ d'écotoxicologie (encadré 2)

TEST D'IMMOBILISATION DES DAPHNIES SUR 24 H ET 48 H

La toxicité aiguë de sédiments et de l'eau est évaluée par la détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Le protocole utilisé est basé sur la norme NFT90-378 ISO¹⁰ 6341. Ce test écotoxicologique permet l'évaluation des risques toxiques liés à la présence de produits chimiques dans les effluents urbains ou industriels et les eaux naturelles, pour l'Homme et son environnement.

TEST DE GERMINATION ET DE CROISSANCE SUR DES RADIS, *RAPHANUS SATIVUS* L.

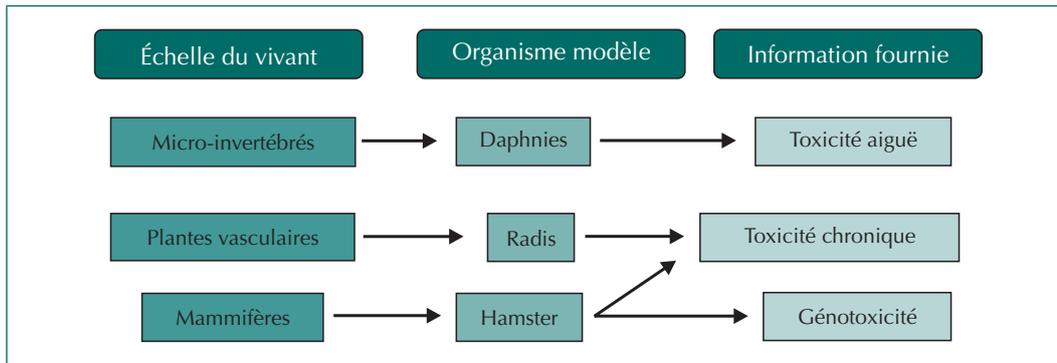
(AFNOR X31-201 ET X31-202, ISO 11269-2)

Le protocole d'évaluation de la toxicité de sédiments et de l'eau suit les normes françaises et européennes AFNOR X31-201 (essai d'inhibition de germination par une substance), X31-202 (essai d'inhibition de la croissance des végétaux par une substance) et ISO 11269-2 (effet des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs).

Encadré 1

L'article L211-1 du Code de l'environnement modifié par la loi n° 2006-1772 du 30 décembre 2006 – article 20 du Journal officiel de la République française du 31 décembre 2006 – explicite les missions de gestion équilibrée et durable de la ressource en eau qui prennent en compte les adaptations nécessaires au changement climatique et vise à assurer notamment :

- la protection des eaux et la lutte contre toute pollution par déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matières de toute nature et plus généralement par tout fait susceptible de provoquer ou d'accroître la dégradation des eaux en modifiant leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques ou bactériologiques, qu'il s'agisse des eaux superficielles, souterraines ou des eaux de la mer dans la limite des eaux territoriales ;
- la restauration de la qualité de ces eaux et leur régénération.



▲ Figure 1 – Schématisation des différentes échelles utilisées dans notre approche, permettant une complémentarité des essais d'écotoxicité intégrant les risques induits sur le règne animal et végétal à différents niveaux : toxicité aiguë ou chronique, génotoxicité. L'intérêt de notre approche est d'associer ces trois niveaux d'information pour couvrir un large panel de risques induits sur le vivant.

Encadré 2

Test d'inhibition de la mobilité des Daphnies (normes AFNOR 2001 ; NF T90-378 ISO 6341)

Le test utilisant *Daphnia magna* permet de déterminer la qualité de l'eau et reste un bon modèle pour les tests de toxicité aiguë en eau douce (Martins *et al.*, 2007). Cependant, pour l'évaluation de l'impact de sédiments contaminés, ce test semble peu adapté. Ces cladocères étant des organismes planctoniques, des organismes benthiques seraient plus adaptés à ce type d'évaluation (Dekker *et al.*, 2002 ; Dekker *et al.*, 2006 ; Martínez-Jerónimo *et al.*, 2008).

Test d'inhibition de la germination et test d'inhibition de la croissance des plantes (normes AFNOR X31-201 et X31-202, ISO 11269-2)

Ces tests, utilisant une plante-modèle (radis, ray-grass...) permettent de vérifier l'effet d'une substance (ou d'un mélange) sur la germination et la croissance des phanérophytes pouvant être en contact avec ce(s) polluant(s) de manière chronique ou ponctuelle. Ces tests sont couramment employés pour vérifier la toxicité de sédiments, de lixiviats, d'eaux de ruissellement... Ils sont rapides et simples à mettre en œuvre (Garric *et al.*, 2000).

TEST DES COMÈTES SUR CELLULES DE HAMSTER (ENCADRÉ 3)

Le test des comètes (version alcaline) détecte des lésions primaires de l'ADN¹¹. Cette technique est réalisée sur cellules CHO (*Chinese Hamster Ovary cells*, lignée K1) en présence et en absence d'un mélange activateur S9 Mix (Aouadene *et al.*, 2008). Elle permet d'évaluer les dommages à l'ADN provoqués par la présence d'agents génotoxiques dans les sédiments ou l'eau.

TEST DES MICRONOYAUX SUR CELLULES DE HAMSTER

Il s'agit d'un test de numération des micronoyaux surnuméraires dans une cellule pour évaluer les dommages chromosomiques (lésions majeures de l'ADN aboutissant à des clones de cellules mutées

capables, sous certaines conditions, d'évoluer vers la cancérogenèse induite par les mélanges de polluants dans les milieux aquatiques).

Un diagnostic intégré

L'idée développée ici est de mettre en place, par le choix d'un panel de tests d'écotoxicologie adaptés, une grille de résultats donnant des indications sur les risques induits par la pollution à l'échelle de la microfaune aquatique, des plantes vasculaires et des mammifères (voire de l'Homme) pour mettre en place les actions adéquates de gestion sur le milieu et dans un objectif de réhabilitation ou restauration du site. Cette approche écotoxicologique se distingue des méthodes basées sur l'inventaire de la richesse spécifique des cours

11. Acide désoxyribonucléique.

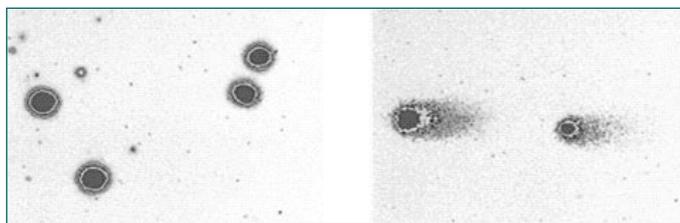
12. L'ADN est une molécule complexe formée de deux brins liés entre eux par des liaisons faibles. Ces liaisons sont facilement rompues en plaçant l'ADN à des pH alcalins : c'est la dénaturation de l'ADN.

13. L'électrophorèse est une technique utilisant la capacité de certaines molécules ionisées de migrer dans un champ électrique. La molécule d'ADN est naturellement anionique (chargée négativement) et migre vers l'anode (pôle positif) lorsqu'elle est placée dans un champ électrique.

14. Indice biologique global normalisé.

Encadré 3

Le **test des comètes** est une technique simple, rapide et sensible, applicable *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo*, pour détecter les cassures de brin d'ADN (simple et double) dans des cellules individualisées. Le test existe sous différentes versions, liées aux conditions de pH lors de la dénaturation¹² et l'électrophorèse¹³ de l'ADN, qui modulent la sensibilité du test : la version neutre (pH 8,5) révèle les cassures double brin. La version alcaline (pH supérieur à 13) est la plus sensible : elle met en évidence les cassures directes de brin, simple et double, les sites labiles alcalins et les sites incomplets de réparation de l'ADN. Cette technique a connu un essor considérable grâce à sa bonne sensibilité, et elle est actuellement utilisée dans de nombreux domaines, parmi lesquels l'étude des mécanismes de réparation de l'ADN, le biomonitoring humain ou l'écotoxicologie.



▲ Photo 1 – Coloration de l'ADN en fluorescence après un test des comètes. Les cellules intactes sont sphériques (à gauche), les cellules lésées apparaissent sous forme de comètes (à droite).

d'eau, en étudiant les effets sur le vivant. Elle complète ainsi d'autres méthodes utilisées couramment pour évaluer la qualité des cours d'eau comme l'IBGN¹⁴ (présence/absence d'espèces bio-indicatrices), qui n'est pas utilisable dans un contexte hydrodynamique très faible (eaux stagnantes). Les indices biocénotiques donnent une image en temps réel de la richesse spécifique de la faune aquatique du cours d'eau alors que les tests écotoxicologiques révèlent le potentiel toxique du cours d'eau.

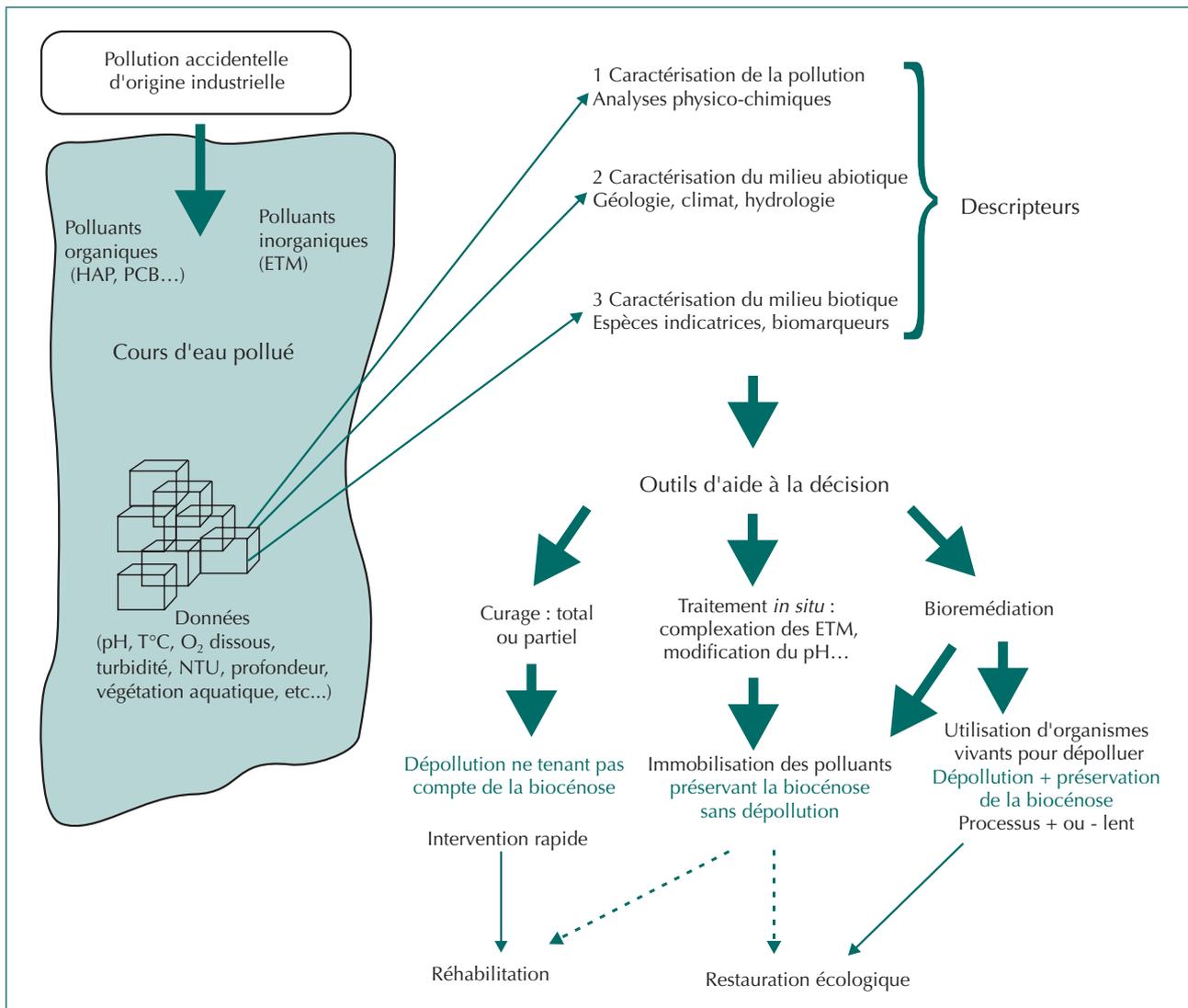
Cette approche ne peut absolument pas se dispenser des informations physico-chimiques apportées par la caractérisation de la pollution et du milieu abiotique qui permettent de compléter le diagnostic (figure 2). Elle se veut donc multidisciplinaire.

Exemple de résultats recherche/action

Lors d'un incendie récent sur un site de recyclage de déchets, des rejets d'eaux polluantes ont contaminé deux canaux en région méditerranéenne menaçant un site protégé Natura 2000 appartenant au Conservatoire du littoral. Malgré la décision rapide de faire stopper les rejets des eaux polluantes par la société, une importante pollution du site a été constatée.

En concomitance avec les mesures physico-chimiques, les sédiments et l'eau de ces canaux ont été prélevés en différentes stations le long des canaux pour appliquer le panel de tests écotoxicologiques précédemment présentés. De par leur complémentarité, les quatre tests permettent d'intégrer les risques induits sur le règne animal et végétal avec des toxicités aiguës et chroniques.

En résultat, ce qui apparaît aux travers des tests est que les maxima de toxicité pour les différents types d'organismes testés ne sont pas corrélés aux concentrations maximales de contaminants enregistrées (figure 3). Ceci vient du fait que les canaux ayant subi une pollution multiple regroupant des polluants organiques et inorganiques, des effets synergiques ou antagonistes entre polluants peuvent se produire sur la biocénose. D'autre part, il apparaît clairement que les tests de toxicité aiguë et chronique et de génotoxicité ne présentent pas leurs maxima aux mêmes stations. Ainsi, les teneurs en polluants du milieu ne peuvent pas donner une indication réaliste de leur impact sur la biocénose. Cela implique que différents tests soient effectués afin d'évaluer l'impact de l'ensemble des pollutions et de proposer les actions les mieux adaptées, comme proposées dans notre démarche.

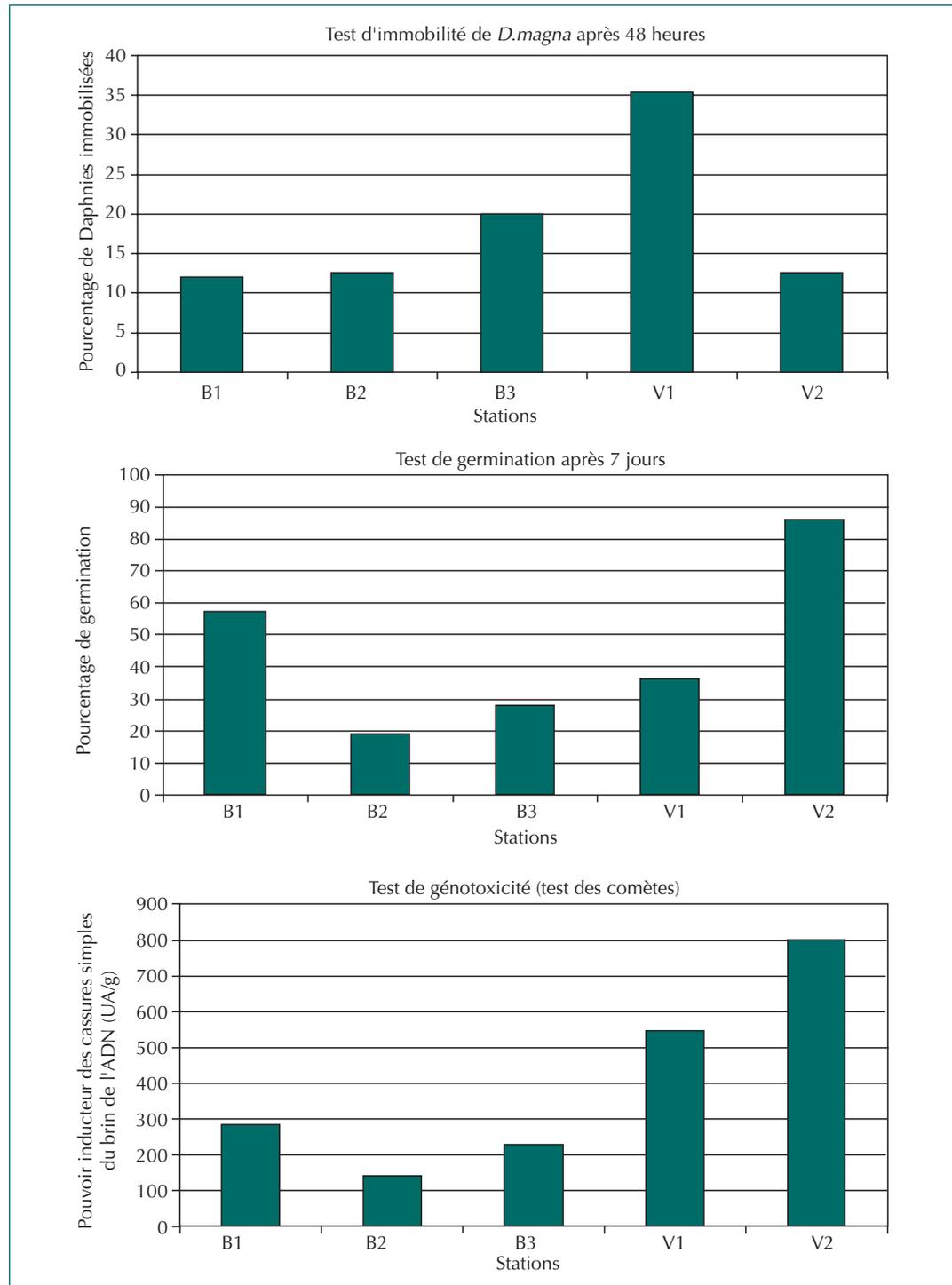


▲ Figure 2 – Schéma décisionnel du diagnostic multidisciplinaire sur un cours d'eau ayant subi une pollution industrielle accidentelle. En plus des descripteurs classiques tels que la caractérisation des polluants, du milieu abiotique et des espèces indicatrices, il est important d'associer des tests des effets des polluants sur le vivant. Avec des tests associant effets physiologiques (tests normalisés d'écotoxicité) et effets sur le génome (tests de génotoxicité), on dispose d'informations plus globales sur le milieu qui seront des outils d'aide à la décision pour réhabiliter, voire restaurer le milieu.

Cette étude a permis d'envisager différemment l'action à mener sur le site impacté. Notamment, plutôt que de procéder à un curage systématique du cours d'eau comme habituellement réalisé, les résultats des analyses écotoxicologiques ont permis de moduler les actions sur le milieu en limitant le curage et ainsi, ne pas ajouter à l'impact de la pollution, un second impact sur la biocénose lié au curage.

Conclusions

Les différents critères d'analyse présentés dans cette étude se veulent un outil d'aide à la décision lors de la mise en place d'un plan de gestion d'un site pollué par des effluents industriels vs la protection de l'environnement et de la santé humaine. Ils sont construits sur des méthodologies différentes, traduisant des réponses aiguës



▲ Figure 3 – Exemples des résultats obtenus sur les sédiments de cinq stations pour trois types de tests. Plus les pourcentages d'immobilisation des Daphnies et les pouvoirs inhibiteurs sont faibles, moins la pollution des sédiments a d'impact. Plus les pourcentages de germination sont élevés, moins la pollution des sédiments a d'impact. Ces résultats montrent qu'une pollution multiple n'impacte pas de la même manière tous les organismes vivants et qu'il est donc indispensable d'associer plusieurs types de test pour estimer les effets induits sur le vivant.

et chroniques sur des organismes de différentes natures : plantes, invertébrés, cellules de vertébrés. Cette approche a été construite dans le but d'amender les règles d'interprétation et *in fine* les textes réglementaires. Les différentes étapes de la démarche de développement de ces indicateurs sont réalisées sur le terrain et en laboratoire. Notre outil d'aide à la décision présente donc six indicateurs renseignant sur trois thèmes différents (figures 1 et 2) :

- le milieu avec deux indicateurs : sédiment et eau,
- la toxicité aiguë avec l'indicateur Daphnie et chronique avec l'indicateur plantes,
- la génotoxicité incluant l'induction de phénomènes de cancérogenèse potentielle avec deux indicateurs : le test des comètes et celui des micronoyaux.

Nos travaux proposent donc une approche intégrée concernant tous les compartiments abiotique et biotique d'un écosystème aquati-

que. Toutefois, pour chaque indicateur, il sera nécessaire de préciser, par des travaux ultérieurs, des seuils d'interprétation et de déterminer leur codification sur une échelle numérique simple. Comme les indicateurs sont des outils de plus en plus employés, en particulier dans les démarches décisionnelles, mais que leur utilisation est souvent restreinte à leurs latitudes de conceptualisation, une seule énumération ne permet pas une approche réaliste des actions à mener dans les actions de réhabilitation et de gestion. Aussi, nos travaux ont vocation à créer une démarche participative, afin de mobiliser un plus grand nombre d'intervenants sur cette problématique des contaminations d'écosystèmes aquatiques de surface par des rejets industriels, et à étendre des études de cas que ce soit au niveau régional ou national. L'objectif à long terme est de pouvoir proposer des solutions écologiquement durables afin de permettre une réhabilitation des milieux aquatiques impactés par des pollutions industrielles, voire leur restauration écologique¹⁵. □

15. La restauration écologique est l'ensemble des processus naturels et assistés par des interventions initiant ou favorisant le rétablissement des écosystèmes dégradés, endommagés ou détruits.

Résumé

L'interface milieu naturel-industrie est une constante dans l'occupation des sols. Lorsqu'un accident d'origine industrielle survient, ce milieu naturel est souvent largement impacté. Les procédures qui se mettent en place font appel à des analyses physico-chimiques pour faire l'état de la pollution du milieu, mais le diagnostic sur le vivant est souvent négligé. Les auteurs proposent une démarche adaptée aux cours d'eau pour le diagnostic des impacts sur le vivant, qui peut s'avérer un outil décisionnel pour les acteurs de terrain en vue d'une réhabilitation ou d'une restauration écologique du milieu.

Abstract

Industries regularly interface with natural environment. The natural environment is often impacted when accidental industrial pollution occurs. Classical procedure makes use of physico-chemical analyses to state the pollution of the environment. However, diagnosis on the living is often neglected in this inventory. The authors suggest an approach adapted to rivers to identify the impacts on the living. This approach may be a decisional tool for field operationals and a first step towards rehabilitation or ecological restoration of environment.

Bibliographie

- AOUADENE, A., DI GIORGIO, C., SARRAZIN, L., MOREAU, X., DE JONG, L., GARCIA, F., THIERY, A., BOTTA, A., DE MEO, M., 2008, Evaluation of the genotoxicity of river sediments from industrialized and unaffected areas using a battery of short-term bioassays, *Environmental Molecular and Mutagenesis*, n° 49, p. 283-299.
- ARONSON, J., MILTON, S.-J., J. BLIGNAUT, N., 2009, *Restoring Natural Capital : Science, Business and Practice*, Island Press, Washington, D.C., sous presse.
- BAZIN, P., BARNAUD, G., 2002, Du suivi à l'évaluation : à la recherche d'indicateurs opérationnels en écologie et conservation, *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, supplément au n° 9, p. 201-224.
- CLEWELL, A., RIEGER, J.-P. 1997, What practitioners need from restoration ecologists, *Restoration Ecology*, n° 5, p. 350-354.
- DEKKER, T., GREVE, G.-D., TER LAAK, T.-L., BOIVIN, M.-E., VEUGER, B., GORTZAK, G., DUMFRIES, S., LÜCKER, S.-M.-G., KRAAK, M.-H.-S., ADMIRAAL, W., VAN DER GEEST, H.-G., 2006, Development and application of a sediment toxicity test using the benthic cladoceran *Chydorus sphaericus*, *Environmental Pollution*, n° 140, p. 231-238.
- DEKKER, T., KRIPS, O.-E., ADMIRAAL, W., 2002, Life history changes in the benthic cladoceran *Chydorus piger* induced by low concentrations of sediment-bound cadmium, *Aquatic Toxicology*, n° 56, p. 93-101.
- GARRIC, J., BONNET, C., BRAY, M., MIGEON, B., MONS, R., VOLLAT, B., 2000, Bioessais sur sédiments. Méthodologie et application à la mesure de la toxicité de sédiments naturels, *Les Études des Agences de l'Eau*, n° 76, 53 p.
- MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F., CRUZ-CISNEROS, J.-L., GARCÍA-HERNÁNDEZ, L., 2008, A comparison of the response of *Simocephalus mixtus* (Cladocera) and *Daphnia magna* to contaminated freshwater sediments, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n° 71, p. 26-31.
- MARTINS, J., OLIVA TELES, L., VASCONCELOS, V., 2007, Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology, *Environment International*, n° 33, p. 414-425.
- OCDE, 1999, *Environmental Indicators for agriculture*, vol. 1, Concepts et cadre d'analyse, Les éditions de l'OCDE, Paris, 439 p.
- OCDE, 2001, *Environmental Indicators for agriculture*, vol. 3, Methods and results, Les éditions de l'OCDE, Paris, 439 p.