

Focus

Des bioessais écotoxicologiques *in situ* pour évaluer les impacts biologiques de la contamination chimique des cours d'eau nationaux : l'expérience du gammare

Complétant l'approche de biosurveillance active des niveaux de contamination chimique des milieux développée chez le gammare, le co-développement INRAE-OFB initié il y a une dizaine d'années a amené à la sphère opérationnelle les premiers bioessais *in situ* qui permettent d'évaluer la toxicité des cours d'eau à une échelle nationale. Ces outils basés sur l'étude des effets en réponse à la contamination chimique sont aujourd'hui normalisés, déployés à l'échelle des réseaux de surveillance de la directive cadre européenne sur l'eau. Ils permettent aux gestionnaires d'avancer dans l'identification des pressions toxiques qui s'exercent sur les écosystèmes aquatiques continentaux.

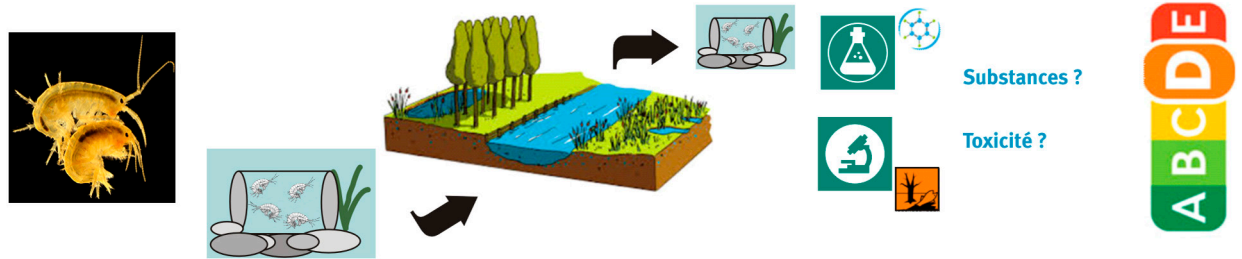
Le biologique pour évaluer l'impact de l'ensemble des substances toxiques présentes au sein des cours d'eau

Évaluer la pression chimique qui pèse sur les milieux et les communautés aquatiques est un enjeu fort pour les démarches de restauration. La directive cadre sur l'eau (DCE) impose aujourd'hui aux États membres de suivre dans les milieux une liste restreinte de substances prioritaires présentant un danger pour l'Homme et l'environnement. Toutefois, cette évaluation du risque « substance-centrée » ne tient nécessairement compte que d'une très faible fraction de la totalité des composés toxiques présents dans les milieux aquatiques au regard de la diversité des substances rejetées et des processus de leur transformation possible. Cette stratégie d'évaluation ignore également les effets de la combinaison de ces substances en mélange. Dans ce contexte, il est proposé de longue date de compléter la surveillance chimique par une approche utilisant des méthodes biologiques intégratrices des effets de l'ensemble des substances présentes. L'évaluation de l'état écologique *via* l'étude des structures des communautés aquatiques, approche globale, peut ainsi être complétée par l'examen de réponses à l'échelle des organismes (biomarqueurs, bioessais) pour identifier les effets spécifiques de la contamination chimique et aider à identifier les sources de dégradation responsables des perturbations écologiques. On peut citer différents dispositifs de surveillance marine (e.g. convention OSPAR en Atlantique Nord-Est, directive cadre « stratégie pour le milieu marin ») qui intègrent ainsi des tests écotoxicologiques pour classer les risques écologiques pour les écosystèmes. En milieu continental, l'utilisation de ces outils, biomarqueurs et bioessais, reste limitée ; ils

ne sont par exemple pas inclus dans le suivi DCE mais leur intérêt est croissant tant au niveau européen (e.g. projet SOLUTIONS) qu'au niveau national (plan Micropolluants 2016-2021, groupe de travail national bioessais OFB-AQUAREF). C'est dans cette dynamique que le partenariat AFB-Irstea aujourd'hui OFB-INRAE mis en œuvre depuis plus de dix ans autour de l'utilisation du gammare dans le cadre de la surveillance chimique (voir l'article de Geffard *et al.*, p. 82-91 dans ce même numéro) a promu le développement parallèle de la mesure de marqueurs biologiques de toxicité sur cette espèce de crustacé sentinelle exposée par encagement dans les milieux (bioessais *in situ*) (figure 1).

En comparaison avec les bioessais écotoxicologiques pratiqués au laboratoire à partir d'échantillons environnementaux prélevés sur le terrain (eau, sédiment), l'approche *in situ* garantit une représentativité de l'exposition aux substances (problématique de conservation ou de modification de la biodisponibilité lors du prélèvement et du transport d'échantillons) et quant à l'intégration temporelle de celle-ci (problématique du prélèvement ponctuel). La biosurveillance active basée sur des organismes transplantés permet la conduite de bioessais *in situ* pour la mesure de survie, de taux de reproduction par exemple ; elle peut aussi être avantageuse comme support pour la mesure de biomarqueurs. En effet, l'analyse de biomarqueurs sur organismes prélevés directement dans les milieux (approches passives) est bien développée chez quelques espèces sentinelles pour les environnements côtiers alors qu'elle est plus complexe à mettre en œuvre pour les masses d'eau continentales qui recouvrent une grande diversité d'hydrosystèmes (fonction du relief, du contexte géologique, de la zone clima-

❶ Principe de l'approche de biosurveillance active développée chez le gammare pour sonder la contamination et la toxicité des cours d'eau : transplantation d'organismes tests (encagement)/analyse post-exposition (accumulation de substances ou réponse biologique)/grille d'interprétation.

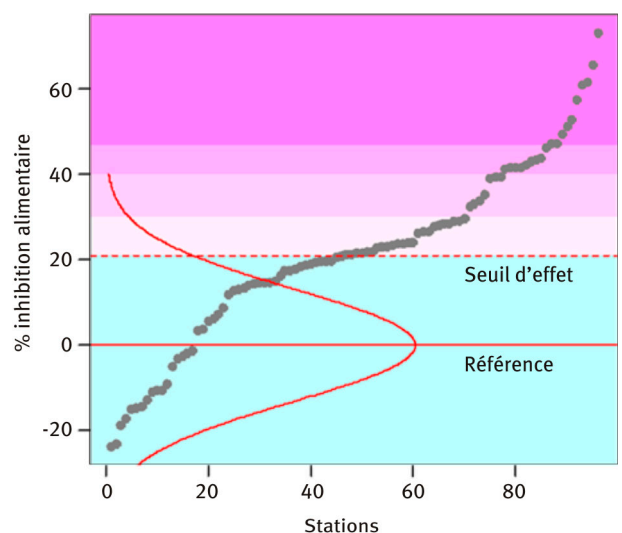


tique, de la taille des cours d'eau, de l'anthropisation... et une hétérogénéité des cortèges d'espèces présentes dans ces habitats. L'approche active telle que développée chez le gammare par le laboratoire d'écotoxicologie d'INRAE à Lyon (figure ❶) a l'avantage d'utiliser une seule et même espèce sur l'ensemble du territoire. S'appuyant sur l'encagement d'organismes calibrés et provenant d'une unique population source, elle permet également de contrôler divers facteurs de confusion abiotiques (temps d'exposition, qualité et quantité de nourriture) et biotiques (origine, taille, sexe, cycle de reproduction, historique d'exposition). Le partenariat OFB-INRAE a permis de faire la démonstration en 2018 *via* la mesure de marqueurs biologiques chez le gammare encagé (taux d'alimentation, fertilité, biomarqueur de neurotoxicité) sur une cinquantaine de stations des réseaux DCE, que la qualification de stations en termes de toxicité est rendue possible à une échelle nationale quand on s'appuie sur un même support biologique comparable dans l'espace et dans le temps (figure ❷).

Des outils normalisés, dotés de grilles d'interprétation, déployés à l'échelle des réseaux de surveillance

Un des verrous à lever pour l'application des outils écotoxicologiques dans le domaine de la surveillance et du diagnostic environnemental est lié à la variabilité naturelle des marqueurs biologiques qui peut masquer les réponses induites par le stress chimique. Divers facteurs abiotiques (température, dureté...) peuvent en effet influencer les traits d'histoire de vie et le niveau des biomarqueurs utilisés comme marqueurs de toxicité. Pour les marqueurs développés chez le gammare, des valeurs de référence et des valeurs seuil d'effet intégrant l'influence de ces facteurs non contrôlés lors des bioessais *in situ* ont été définies à l'aide d'approches de modélisation. De la même façon que pour les indicateurs de contamination ((voir l'article de Geffard *et al.*, p. 82-91 dans ce même numéro), une étude IRSTEA-AFB a permis en 2019 de compléter l'approche en proposant une échelle de graduation de la sévérité des impacts (figure ❷). Il est ainsi possible de comparer dans l'espace et entre campagnes les niveaux de toxicité observés sur des hydrosystèmes déconnectés les uns des autres,

❷ Grille d'interprétation des marqueurs de toxicité chez le gammare (gamme de référence en bleu et échelle de gravité des impacts toxiques en rose) : exemple de données d'inhibition alimentaire enregistrées lors de bioessais in situ sur 96 stations des réseaux DCE ; valeurs observées (points gris) et distribution de référence (courbe rouge).



constituant un outil précieux pour les gestionnaires en termes de priorisation et de suivi de tendances de la qualité des cours d'eau.

Pour répondre à un écho particulièrement favorable chez les gestionnaires publics et privés, Irstea s'est engagé en 2013 dans une démarche de transfert des méthodologies de ces bioessais *in situ* chez le gammare. Cette dynamique s'est accompagnée d'un processus de normalisation des méthodes conduit par les acteurs opérationnels auprès de l'Afnor (normes XP T90-721 et XP T90-722). En parallèle des déploiements du bioessai de bioaccumulation mis en œuvre dans le cadre de la surveillance de l'état chimique (voir l'article de Geffard *et al.*, p. 82-91 dans ce même numéro), ces outils biologiques sont déployés depuis 2018 par quatre agences de bassin sur les stations des réseaux de surveillance DCE poursuivant différents objectifs de suivi de stations (priorisation et caractérisation du risque chimique, contrôle d'enquête et identification des causes de perturbations écologiques).

La biosurveillance à l'heure des omiques : vers l'intégration de biomarqueurs moléculaires pour qualifier les modes d'action toxique

Une des attentes fortes vis-à-vis des outils écotoxicologiques est l'identification du type de pression toxique qui s'exerce dans l'écosystème pour pouvoir relier ces pressions aux sources de contamination dans l'objectif de mettre en place des mesures appropriées pour restaurer la qualité du milieu. Les approches multi-biomarqueurs qui considèrent différents modes d'action toxique (e.g. neurotoxicité, perturbation endocrinienne, génotoxicité...) sont attendues dans ce contexte mais elles se heurtent à différentes limites techniques qui contraignent leur utilisation en routine, notamment la nécessité de mettre en place une méthodologie spécifique pour la mesure de chaque biomarqueur interdisant le traitement de grand nombre d'échantillons. Une autre limite est la mauvaise connaissance moléculaire des espèces sentinelles chez lesquelles on veut décrire les modes d'action de la toxicité environnementale. Chez le gammare, nous avons bénéficié des dernières innovations en biologie moléculaire dans le cadre du programme de l'Agence nationale de la recherche Proteogam et mis en place une approche dite de protéogénomique (collaboration Li2D CEA Marcoule). Celle-ci a permis de définir des catalogues de protéines candidates biomarqueurs associées à diverses fonctions biologiques chez ce crustacé.

Nous avons exploité ensuite des méthodes de protéomique ciblée par spectrométrie de masse développées dans le domaine du diagnostic médical (collaboration ISA CNRS Lyon 1), méthodes qui à l'instar des approches multi-résidus développées pour le dosage des contaminants permettent de quantifier sur un même échantillon et en une unique analyse plusieurs dizaines de ces protéines biomarqueurs. Se basant sur les mêmes technologies analytiques aujourd'hui maîtrisées par les laboratoires prestataires assurant le suivi chimique des masses d'eaux, ceci doit promouvoir la mesure de biomarqueurs moléculaires en surveillance à large échelle. Suite à une première étude de démonstration de mesure de ces nouveaux biomarqueurs moléculaires chez des gammars engagés sur une vingtaine de stations du bassin de l'Agence de l'eau RMC, un programme de développement INRAE-OFB soutient actuellement l'acquisition de jeux de données à l'échelle nationale, la définition de valeurs de référence et de grilles d'interprétation des niveaux de ces biomarqueurs, ainsi que l'application de ces méthodologies à d'autres espèces sentinelles pour la surveillance des milieux dulçaquicoles, estuariens et marins. Complétant les outils biologiques déjà opérationnels chez le gammare, les perspectives de ces développements en protéomique environnementale qui doivent affiner le diagnostic en termes de signatures de la toxicité environnementale viendront nourrir la réflexion en cours pour faire évoluer les critères et méthodes d'évaluation de la DCE. Cette réflexion interroge aujourd'hui la possibilité d'inclure les méthodes biologiques comme paramètres complémentaires en support à l'évaluation des états chimique et écologique et à des fins d'identification des pressions nécessaires aux objectifs de protection et restauration des écosystèmes aquatiques. ■

Les auteurs

Arnaud CHAUMOT, Rémi RECOURA-MASSAQUANT, Davide DEGLI ESPOSTI et Olivier GEFFARD

INRAE, UR RiverLy,
5 rue de la Doua, CS 20244,
F-69625 Villeurbanne, France.

✉ arnaud.chaumot@inrae.fr

✉ remi.recoura-massaquant@inrae.fr

✉ davide.degli-esposti@inrae.fr

✉ olivier.geffard@inrae.fr

Olivier PERCEVAL

Office français de la biodiversité,
Direction de la recherche et de l'appui scientifique,
12 cours Lumière, F-94300 Vincennes, France.

✉ olivier.perceval@ofb.gouv.fr

EN SAVOIR PLUS...

📄 **GEFFARD, O., FERRARI, B., CHAUMOT, A., MONTUELLE, B.**, 2010, Expérimentation in situ : principes et perspectives, *Revue Sciences Eaux & Territoires*, n° 1, p. 20-25,

🌐 <http://www.set-revue.fr/experimentation-situ-principes-et-perspectives/>

📄 **SANCHEZ, W., BURGEOT, T. PERCEVAL, O.**, 2012, Perspectives from the French workshop on the development and validation of biomarkers and bioassays for the monitoring of aquatic environments, *Environmental Science and Pollution Research*, n° 19, p. 1345-1347, 🌐 <https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-00961776>

📄 **WERNERSSON, A.-S., MAGGI, C., CARERE, M.**, 2014, *Technical report on aquatic effect-based monitoring tools*, Technical Report 2014-077, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities,

🌐 <https://op.europa.eu/fr/publication-detail/-/publication/5da59ae1-6964-417c-9511-1ff983b76709>



Lecture du QR code d'un flacon contenant des gammars exposés dans le cours d'eau, lors de la récupération des échantillonneurs.