HAL
open science

La biosurveillance

Eric Vindimian

To cite this version:

Eric Vindimian. La biosurveillance. Colloque "Mesurer l'eau", Jun 1996, Montbard, France. pp.188-195. ineris-00971966

HAL Id: ineris-00971966

https://ineris.hal.science/ineris-00971966

Submitted on 3 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La biosurveillance

(Ou le contrôle de l'innocuité des activités humaines pour l'environnement au moyen de méthodes biologiques)

Éric VINDIMIAN
Délégué Environnement (Eau-Écotoxicologie) et
Chargé de mission Recherche.
INERIS, Direction scientifique et de la qualité
BP2. 60550 VERNEUIL EN HALATTE.
☎ 44 55 68 27. 🖷 44 55 66 55

Lorsque l'on cherche à protéger les écosystèmes contre des agressions extérieures, en général liées à l'activité humaine, qui perturbent leurs mécanismes biologiques, l'idée la plus simple est de chercher au sein des organismes vivants les témoins de ces perturbations. La notion de bio-surveillance vient de là.

Cela est particulièrement vrai en ce qui concerne les rejets de produits chimiques dans l'environnement. Les analystes peuvent détecter des traces de produits chimiques dans des matrices très complexes mais on n'envisage pas de leur confier l'analyse exhaustive de tous les produits présents à chaque instant dans le milieu.

Les chercheurs et les gestionnaires du milieu aquatique ont donc développé depuis de nombreuses années des méthodes de biosurveillance tant au laboratoire que sur le terrain. L'objectif de cette présentation est de brosser très rapidement le paysage de ces méthodes biologiques en les limitant à celles qui visent la détection des toxiques et l'étude de leurs effets dans le milieu aquatique[1].

La façon la plus simple de présenter les outils de la biosurveillance est de les classifier en bioessais et bio-indicateurs. Les premiers sont des méthodes de laboratoire essentiellement basées sur l'utilisation d'organismes vivants modèles en conditions contrôlées. Les bio-indicateurs font appel à l'analyse de la situation des organismes peuplant les écosystèmes.

Nous verrons les principales caractéristiques de ces deux grandes familles de méthodes et nous présenterons également d'autres techniques difficilement classables a priori. Nous tenterons enfin une approche de classification afin de sensibiliser le lecteur à la complémentarité de ces méthodes.

Les bio-essais

Ce sont des méthodes de laboratoire, souvent normalisées, qui permettent de mesurer des concentrations significativement nocives pour des organismes vivants que l'on sait élever ou maintenir hors de leur biotope. On distingue couramment les bio-essais chroniques et les bio-essais aigus pour des questions de durée.

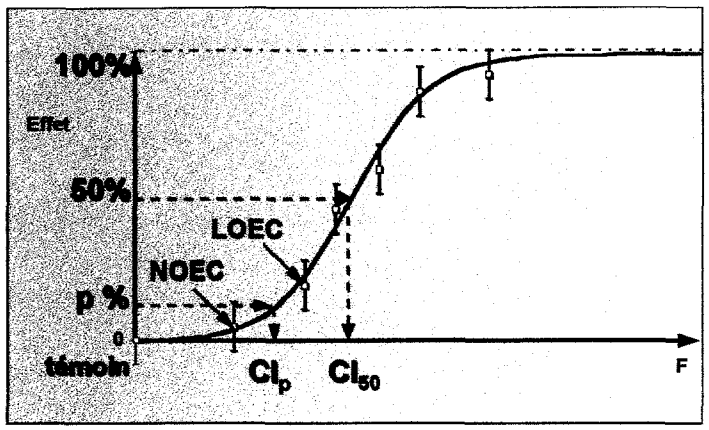
- Exemple : essai de toxicité sur Daphnia magna normalisé au niveau international.

Les bio-essais sont bien connus des agences de l'Eau qui pratiquent notamment les essais sur *Daphnia magna* et l'essai sur bactéries bioluminescentes plus connu sous le nom commercial de microtox®. En Amérique du nord la biosurveillance des effluents et du milieu fait appel à des essais de toxicité chronique essentiellement sur des algues unicellulaires et des daphnies (*Ceriodaphnia dubia*). Il s'y ajoute des essais sur des phases embryo-larvaires de poisson (Fathead minnow). En Europe ces essais sont également développés mais leur application est encore embryonnaire. En France les agences de l'Eau ont étudié la faisabilité de ce type de contrôle par des essais chroniques et réfléchissent maintenant aux modalités d'application sous la forme d'un index de toxicité.

La plupart des essais de toxicité aiguë sont normalisés par l'ISO et le CEN. Des travaux sont en cours pour certains essais chroniques.

[1] Un texte plus élaboré est disponible sous la forme du cahier technique inter-agences n°17, sous le titre Bio-essais et bio-indicateurs de toxicité dans les milieux naturels (1993).

Les bioessais se caractérisent par l'établissement d'une courbe concentration-réponse illustrée par le graphe suivant.



Sur ce graphe on montre les diverses façon d'interpréter une courbe concentration-réponse[2]. NOEC[3] et LOEC[4] sont des valeurs obtenues par des considérations statistiques sur les lots d'essais, les valeurs dépendent des choix des concentrations expérimentales. En outre la dispersion des résultats autour de la moyenne dépend du nombre de réplicats ce qui conduit ces valeurs à dépendre fortement du nombre d'essais réalisés aux concentrations NOEC et LOEC. En revanche la courbe de toxicité est stable avec la répétition, c'est la précision des paramètres de l'équation de la courbe qui augmente avec le nombre de répétitions. Il est donc préférable d'utiliser des valeurs issues de cette courbe comme les CIp p valant 1, 5, 10 ou 50%.

La modélisation de la courbe passe par une régression sur l'équation de Hill qui n'est pas linéaire. Lorsqu'on ne dispose pas d'algorithme idoine ou bien lorsque la gamme de concentrations ne couvre pas toute la courbe, ce qui interdit d'utiliser la régression non linéaire, il existe un palliatif. Dans ce cas on utilise une régression polynomiale sur le début de la courbe ou même (mais c'est moins précis) une interpolation linéaire. Ces deux dernières méthodes permettent d'accéder à des CIp pour p faible.

Bio-capteurs

Ils mesurent en temps réel des réactions biologiques dans le cadre de la surveillance des écosystèmes. Ils sont en général basés sur des systèmes vivants encagés dans le milieu naturel avec un capteur de paramètres physiologiques (nage, respiration, ouverture de valves). Des électrodes enzymatiques ou bien incluant des cellules vivantes couplées à des électrodes de pH ou d'oxygène ont été utilisées. Ces systèmes peuvent être couplés à des préleveurs déclenchés au passage des pollutions.

Les biocapteurs cherchent à pallier le manque de caractère intégrateur des bio-essais. En effet un bio-essai passe par un prélèvement d'eau ou d'effluent qui n'est représentatif que de l'instant, ou d'une période assez courte. Un capteur présent en permanence dans le milieu à surveiller devrait permettre de détecter toute présence d'un agent toxique au moment de son passage. Couplé à un préleveur d'échantillon le bio-capteur déclenchera une alarme et le gestionnaire du milieu aura toute la possibilité d'analyser des échantillons représentatifs de l'événement détecté.

Quelques exemples d'alarmes sur le Rhin

Sur le tableau suivant on notera un certain nombre d'événements détectés par un capteur utilisant des poissons obligés de nager à contre-courant. Toute faiblesse des poissons est détectée et ces alarmes se

---

[2] On remarquera que l'ordonnée 0 est statistique, c'est à dire qu'elle représente la moyenne du témoin. Il ne faut donc pas s'étonner de valeurs « négatives » c'est à dire d'individus dont les performances sont supérieures à la moyenne des témoins à des concentrations faibles. La tendance générale pour l'effet observé est cependant bien une perturbation croissante avec la concentration.

3 NOEC : No Observed Effect Concentration = concentration maximale observée sans effet.

4 LOEC : Lowest Observed Effect Concentration = concentration minimale observée avec effet significatif

révèlent bien plus sensibles que la concentration létale des produits détectés. On peut en conclure que la présence de nombreux toxiques est aggravante et que la létalité est un paramètre trop peu sensible pour être représentatif des impacts sur le milieu aquatique.

Date	Produits détectés	Concentration (µg/L)	CL50 (mg/L)
15/4/88	Isophorone	26	220
6/7/88	Isophorone	26	220
26/10/88	Tétrachloroéthane	10	37
	Tétrachloroéthène	0.2	5
	Fluoranthrène	0.4	4
	Pyrène	0.3	0.0026
	Paraoxon	1.3	-
6/2/89	Trioxane	2	-
	Fluoranthrène	0.5	-
	Pyrène	0.4	0.0026
	Alcoxyalcane	0.5	-
	Terpenoïde	0.5	-

Les bio-indicateurs

Les bio-indicateurs sont des organismes vivants qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permettent de caractériser l'état d'un écosystème.

Définition de Patrick BLANDIN (MNHM)

Selon Patrick BLANDIN du muséum d'histoire naturelle tout organisme vivant peut être un bio-indicateur dès lors que la mesure que l'on effectue est significative de l'état de l'écosystème étudié. Le niveau de cette mesure est lui même très variable, du sub-cellulaire au supra-spécifique. On voit cependant que les bio-essais, qui utilisent des espèces vivantes sorties de leur milieu, ne sont pas concernés puisqu'il ne peuvent caractériser l'état d'un écosystème dont ils sont par définition absents.

Les indicateurs écologiques

Ils font appel à la connaissance fine de la structure et du fonctionnement des écosystèmes.

La comparaison de la composition floro-faunistique des stations étudiées à une référence permet de les classifier selon le degré de perturbation de leur qualité écologique.

Exemple : IBGN (indice biotique général normalisé) normalisé par l'AFNOR, norme ISO/CEN en cours.

L'IBGN est un indicateur écologique maintenant utilisé en routine. Il est normalisé par l'AFNOR. Au niveau international l'utilisation d'indicateurs écologiques fait l'objet de travaux de normalisation en cours. Chaque pays possède ses propres méthodes qui sont difficilement transposables même si elles sont très proches dans leur esprit. L'IBGN devrait être retenu dans le cadre de la norme ISO/CEN comme un des exemples de méthodes biologiques de classification des rivières. Cette action de normalisation est fortement corrélée avec la mise en place parallèlement par l'union Européenne d'une directive sur la gestion globale de l'eau qui intègre la directive sur la qualité écologique des eaux qui était en cours d'élaboration.

La détection de toxiques par les indicateurs écologiques de type IBGN est délicate et probablement impossible. Ces indicateurs ont été crées pour faire face à des situations de pollution organique. Quelques approches sur des indices plus spécialisés (Oligochète) sont plus prometteurs dans le domaine de l'écotoxicologie. Il est possible que des outils basés sur la modélisation comme le concept britannique RIVPACS permettent un jour de diagnostiquer la présence de toxiques dans le milieu.

Indicateurs biochimiques

Toute interaction d'un toxique avec un être vivant passe par une première étape moléculaire qui est l'interaction du toxique avec une cible biochimique parfois très spécifique. L'étude de cette cible peut

donc donner des indications sur une étape précoce d'intoxication. Ces indicateurs sont donc des systèmes d'alarme précoce qui révèlent un problème potentiel dans l'écosystème étudié.

Le fait de s'intéresser à une phase précoce de l'intoxication est intéressant par son aspect prédictif. En revanche la pertinence écologique n'est pas claire. On ne sait pas vraiment dire quel est le risque pour les organismes exposés aux toxiques dès lors que leur métabolisme a réagi. Le principe de précaution implique cependant de prendre en compte le phénomène qui démontre de toute évidence que les composés contaminant l'écosystème étudié ont interagi avec la biocénose.

Les indicateurs biochimiques sont bien souvent spécifiques des substances capables de provoquer leur réaction. Cela peut être considéré comme un inconvénient si l'on recherche un indicateur universel, simple système d'alarme. En revanche ces indications spécifiques sont très utiles pour connaître les causes d'intoxication ou bien pour cerner le type de pollution affectant un écosystème.

Exemples d'indicateurs biochimiques

- Mono-oxygénases à Cytochrome P450.
- Métallothionéïnes
- Protéines de stress
- Enzymes de conjugaison
- Marqueurs de stress oxydatif

Les mono-oxygénases à Cytochrome P450 sont les indicateurs biochimiques les plus utilisés. Un exemple de leur utilisation sera présenté plus loin.

Les métallothioneïnes sont des protéines qui fixent spécifiquement les métaux et dont la synthèse est induite par ces mêmes métaux. Elles peuvent ainsi mettre en évidence la présence de métaux sous une forme bio-disponible au sein des écosystèmes. Leur sensibilité n'est pas encore clairement établie et suscite encore des discussions.

Les protéines de stress réagissent à toutes sortes d'atteintes non spécifiques ce qui fait leur principal intérêt. Cependant la source de stress n'est pas forcément toxique et la signification pour les atteintes aux écosystèmes reste à prouver.

Les enzymes de conjugaison (encore appelées enzymes de phase II) interviennent en aval des mono-oxygénases (dites de phase I) dans les mécanismes de métabolisation des xénobiotiques, leur sensibilité et leur spécificité sont cependant plus faibles que celles des enzymes de phase I.

Les marqueurs de stress oxydatifs révèlent l'apparition d'une toxicité au niveau cellulaire. Il n'indiquent donc pas seulement la présence d'un contaminant bio-disponible mais un réel effet toxique.

Mono-oxygénases à Cytochrome P450

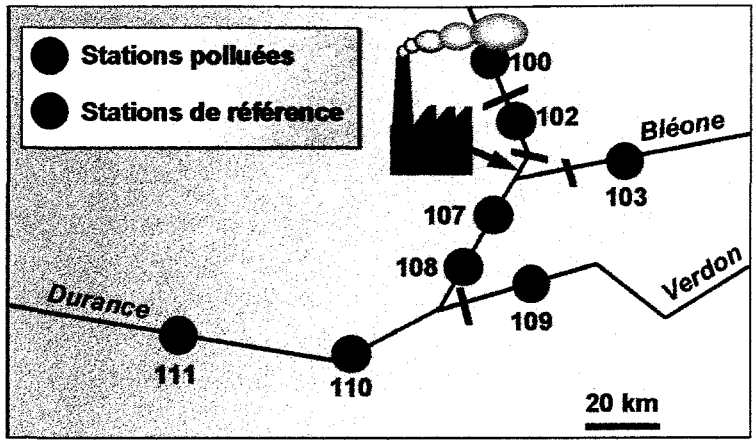
Les systèmes enzymatiques à Cytochrome P450 sont induits par la présence de composés aromatiques plans comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB) et les dioxines. Ils sont présents chez tous les êtres vivants.

La mesure de l'induction peut se faire par la mesure d'activités enzymatiques spécifiques, le dosage de la protéine par des anticorps ou le dosage des ARN messagers spécifiques.

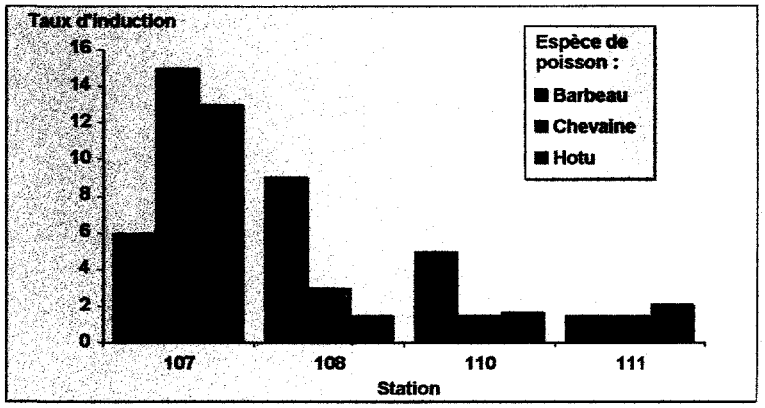
Les mono-oxygénases sont des enzymes capables de fonctionnaliser les hydrocarbures aromatiques polycycliques très stables et persistants. Elles font partie des systèmes de défense des êtres vivants qui leur permettent d'excréter, via la conjugaison dans une deuxième phase, les molécules fortement bioaccumulables en les rendant hydrosolubles.

L'induction de ces enzymes par un certain nombre de polluants fortement rémanents dans l'environnement est le mécanisme utilisé pour révéler la présence d'une pollution par ce type de composés.

Exemple de la Durance



Induction EROD en aval du rejet



Ce graphe montre clairement l'induction des enzymes à Cytochrome P450 (activité Ethoxyrésorufine-O-dééthylase) en aval d'un rejet polluant industriel. Les activités ont pu être corrélées avec la présence de PCB dans les tissus des poissons à certaines époques de l'année à la station la plus proche du rejet. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les PCB dans les sédiments étaient indétectables. On note également la sensibilité différentielle des espèces avec un phénomène typique d'inhibition en aval proche pour une espèce benthique comme le barbeau.

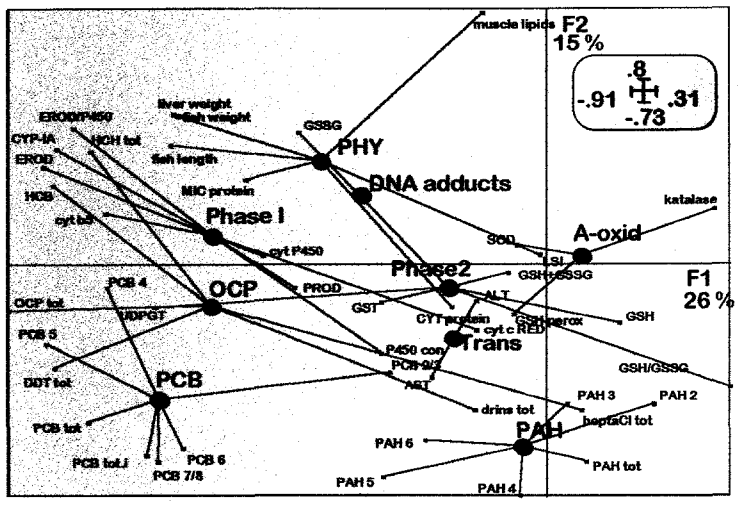
Ces résultats illustrent bien comment un système de bio-surveillance peut renseigner sur la présence de polluants bio-disponibles sur le profil en long d'une rivière.

Exemple de la ville d'Amsterdam

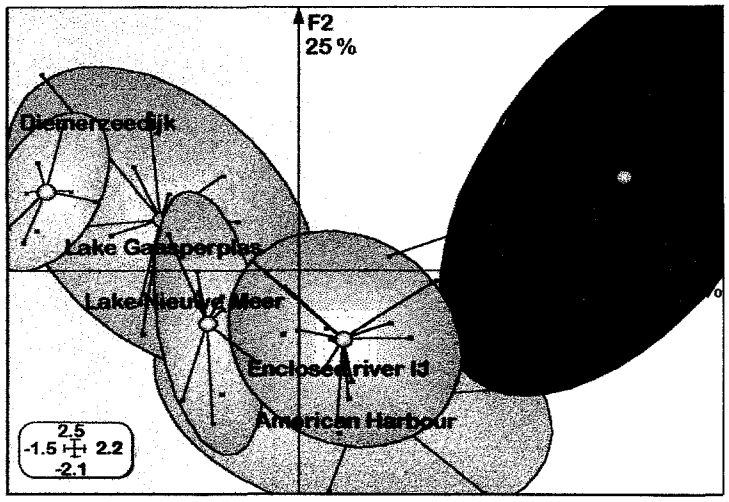
Cet exemple est tiré d'une étude en commun avec la municipalité d'Amsterdam. Au sein de l'agglomération six pièces d'eau ont donné lieu à des prélèvements d'anguilles et de sédiments. De nombreuses analyses chimiques et des dosages de biomarqueurs ont été réalisés. Le traitement statistique qui va suivre illustre comment on peut déterminer des valeurs de paramètres chimiques par le dosage de biomarqueurs.

L'analyse en composantes principales, représentée ci-dessous, montre les interrelations contaminants biomarqueurs dans l'environnement. Sur ce graphe on remarque la proximité dans le plan principal des activités enzymatiques de phase I avec les résidus de PCB et organochlorés dosés dans les tissus.

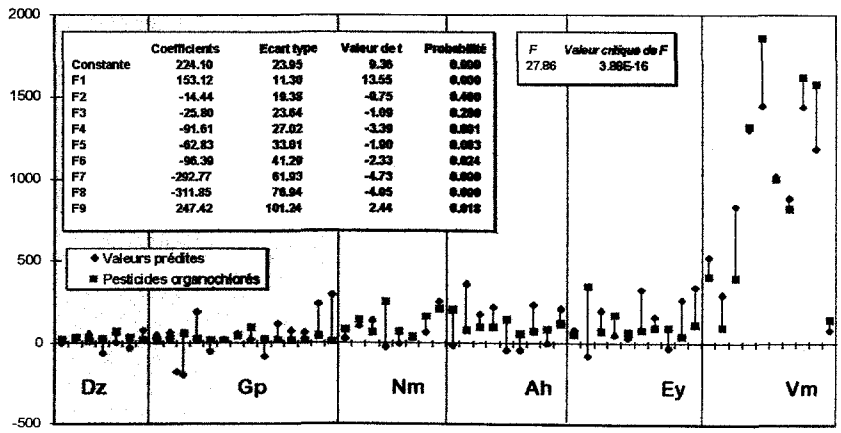
ACP du jeu de variables chimiques et biochimiques



L'analyse discriminante ci-dessous permet de comparer des sites différant par leur contamination en fonction de la réponse de biomarqueurs. On voit sur la figure que 9 biomarqueurs permettent une séparation des six sites investigués alors même que des analyses sur des contaminants des sédiments ou des poissons ne permettent pas une telle discrimination.



Prédiction des bioconcentrations en organochlorés à partir des biomarqueurs



L'analyse en composantes principales est également un outil de modélisation puisqu'elle fournit des facteurs qui constituent un jeu de variables orthogonales. Il est donc possible d'effectuer une régression

sur ces facteurs pour prédire la valeur d'une variable quelconque. Dans cet exemple on ajuste avec une assez bonne précision la valeur de concentration des organochlorés totaux à partir des facteurs de l'ACP sur des biomarqueurs.

Méthode PICT[5]

Il s'agit de mesurer la résistance de communautés prélevées sur le terrain en diverses stations à certains toxiques connus, au laboratoire. Cette méthode a été développée pour l'étude des communautés phytoplanctoniques qui présentent l'avantage d'être cultivables au laboratoire. Les échantillons des zones non polluées sont plus sensibles aux produits toxiques. On peut mesurer des effets qui se traduisent au niveau génotypique.

On peut ainsi mesurer la tolérance aux toxiques qui dépend du degré de contamination du milieu, les organismes vivants s'étant adaptés à cette contamination. On met alors en évidence une relation de cause à effet entre la contamination et un effet sur les communautés vivantes *in situ*.

Méthode T.I.E.

T.I.E. (toxicant reduction evaluation) est une méthode couplant les bioessais et les méthodes d'analyse chimique pour établir les relations de cause à effet au laboratoire. Il s'agit par divers types de fractionnement de trouver les molécules responsables de la toxicité d'un effluent. La méthode est itérative et s'arrête quand les propriétés des agents toxiques sont suffisamment connues pour envisager des mesures de protection.

Cet outil a été développé par l'agence de protection de l'environnement aux Etats-Unis (US EPA). Cela permet par le jeu de fractionnements successifs des effluents et d'essais biologiques de déterminer quelles substances sont responsables de la toxicité observée dans un effluent.

Comment choisir la bonne méthode

Les différentes méthodes biologiques sont plus complémentaires que concurrentes.

- Elles peuvent fournir des informations très différentes de valeur écologique variable.
- Leurs apports à la connaissance des contaminants sont également très divers.

Nous pouvons classer les caractéristiques des différentes méthodes dans un tableau en fonction de différents critères : signification écologique, relation de cause à effet, influence de la typologie des écosystèmes, alarme précoce...

Codage des qualités de diverses méthodes

Qualité	EFFL	AMBI	SEDI	SUBS	CAPT	INDI	BIOC	PICT	TIE	CHIM
SIGNIFICATION ECO.	**2**	**2**	**3**	**1**	**3**	**5**	**3**	**4**	**2**	**0**
EFFETS DIFFERES	2	0	3	1	0	5	4	4	0	0
BIOACCUMULATION	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**3**	**0**	**0**	**3**
BIOMAGNIFICATION	0	0	0	0	0	4	3	0	0	2
MECANISME D'ACTION	**1**	**0**	**0**	**2**	**0**	**0**	**5**	**0**	**2**	**2**
CAUSE EFFET	3	2	2	3	2	1	3	4	5	2
ALARME PRECOCE	**2**	**1**	**2**	**1**	**4**	**0**	**6**	**0**	**0**	**1**
BIODIVERSITE	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0
ESPECES MENACEES	**1**	**1**	**1**	**1**	**0**	**5**	**0**	**2**	**0**	**0**
IMPACT HUMAIN	2	2	3	1	2	2	4	0	1	4
INFLUENCE TYPOLOGIE	**0**	**0**	**1**	**0**	**0**	**5**	**3**	**3**	**0**	**0**
FACILITE	3	3	2	4	3	2	3	1	1	4
RAPIDITE	**4**	**4**	**3**	**4**	**5**	**0**	**4**	**3**	**2**	**4**
EXHAUSTIVITE	4	4	3	0	3	5	2	5	4	0
SPECIFICITE	**0**	**0**	**1**	**5**	**1**	**0**	**4**	**1**	**4**	**5**
PRECISION	1	1	2	4	2	2	3	2	4	5
EVALUATION RISQUE	**0**	**0**	**0**	**4**	**2**	**0**	**3**	**0**	**0**	**2**
CRIBLAGE TOXIQUES	0	0	0	5	0	0	4	1	0	5

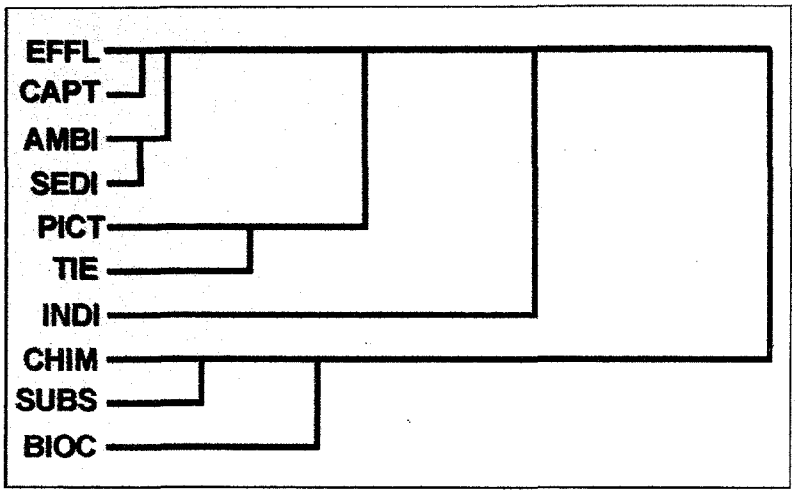
[5] PICT : pollution induced community tolerance.

Les différentes méthodes biologiques (et l'analyse chimique) sont présentées en colonne :

- EFFL : essais sur effluents
- AMBI : essais sur l'eau du milieu
- SEDI : essais sur les sédiments du milieu
- SUBS : essais sur substances chimiques
- CAPT : utilisation de biocapteurs
- INDI : indicateurs écologiques
- BIOC : indicateurs biochimiques
- PICT : méthode PICT
- TIE : méthode TIE
- CHIM : analyses chimiques

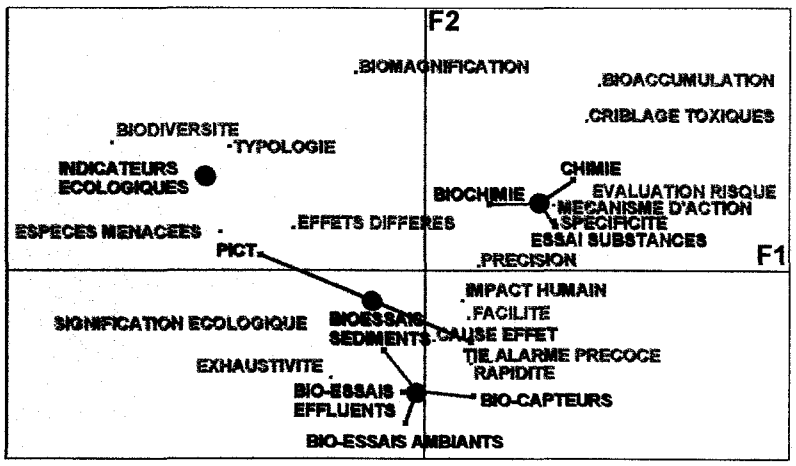
En ligne on indique pour chaque rubrique correspondant à une caractéristique de ces méthodes une note de 0 à 5.

Arbre de classification des méthodes



La classification automatique fait apparaître quatre groupes principaux représentés par des couleurs différentes.

Analyse factorielle des correspondances



En analyse factorielle on peut représenter la proximité des caractéristiques des méthodes avec chacun des groupes issus de la classification.

Classification des méthodes

On obtient quatre groupes :

1. Bioessais : faiblement significatif, indépendant du fonctionnement, mise en oeuvre aisée.
2. Groupe causal (PICT, TIE), plus complexe mais apporte des preuves.
3. Indicateurs écologiques : bonne représentativité écologique, non explicatif, réponse lente.
4. Chimie, essais sur substances : utile avant utilisation des substances chimiques.

Conclusion

L'analyse des impacts toxiques dans les écosystèmes n'utilise pas toujours les méthodes les plus rationnelles.

L'association des bio-indicateurs, des essais biologiques, de l'analyse chimique et d'autres techniques, selon un schéma clair permet de définir une bio-surveillance pour un coût minimum.

Il est important de normaliser les méthodes biologiques afin de passer d'objets de recherche à des outils opérationnels