

Pôle R&D Mont/Lacq

Service Environnement

Référence : ENV/007.05
Numéro Projet : H50206
Auteur : Anne BASSERES

Date : 5 mars 2005

COMPTE RENDU DE SEMINAIRE

OBJET : VALIDATION DES REPONSES BIOMARQUEURS D'EXPOSITION AUX RIVIERES PILOTES

Date : 13 et 14 décembre 2004

Lieu : Institut Rural de Mont

Participants : Liste page suivante

Destinataires : Participants +
Mmes ADAM, BAKES, BAZERGUES, BUDZINSKI, COSSU, DE L'HOMME, DUPRE, DURRIEU, JULLIAND, VASSEUR
MM. BERARD, CAQUET, CAUMETTE, CHARDENAS, COSTE, DONNARD, GARRIGUES, GENNART, GIRAUDEL, GIRES, GROSMAITRE, LAGADIC, LUYTEN, MAILLARD, MARTINET, MICHELIER, MURRET-LABARTHE, PERRONDIN, PLISSON-SAUNE, SOUVIGNET, THIEBAUT, THYBAUD, VERVIER, VINDIMIAN.

Résumé :

Ce projet a permis de démontrer que les réponses biomarqueurs d'exposition (dans des palourdes d'eau douce) sont précoces et sensibles en comparaison avec les effets observés sur l'écosystème aquatique (communautés d'invertébrés, de diatomées). La prédictivité des ces réponses, que l'on a commencé à démontrer, se doit d'être approfondie.

Par ailleurs, il a été montré que les interactions de mélanges donnaient pour la plupart des effets moyens (70-80%), les synergies et antagonismes ne représentant qu'une faible part (10-15%).



Liste des participants

Nom	Société
AUDROIN Muriel	TOTAL TPF
BASSERES Anne	TOTAL TPF
BERNOUD Stéphanie	BRGM
CHAMPEAU Olivier	LPTC
CHENON Pascale	
CIFFROY Philippe	EDF
CRABOS Jean Louis	APESA
CROUAU Yves	CNRS Toulouse
DELATTRE Cécile	EDF
DELMAS François	CEMAGREF
DUCHEIN Alain	AGENCE EAU
ESPALIEU Delphine	BURGEAP
GONNET Jean François	TOTAL
HORN Michel	DIREN B. NORMANDIE AFNOR
KHALANSKI Michel	EDF
LAFONT Michel	CEMAGREF
LE FLOCH Stéphane	CEDRE
LEMAIRE Philippe	ARKEMA
LEONARD Marc	L OREAL
MEDEVIELLE Nadine	TOTAL TPF
MERLIN François Xavier	CEDRE
MORIN Soizic	CEMAGREF
NARBONNE Jean François	LPTC
NARBONNE Julien	ALITOX
PERES Florence	BE
PERIE Frédéric	TOTAL TPF
SAINT-DENIS Marine	BIOTOX
SCHERRER Pierre	TOTAL
SERENA Jean Michel	CSP
SIMONET François	AGENCE EAU
TEMARA Ali	P&G

Ce séminaire a été organisé les 13 et 14 décembre 2004, par le pôle de R&D Mont/Lacq, pour restituer les résultats du projet de recherches mené en partenariat avec l'Agence de l'Eau Adour Garonne, sur la validation des réponses biomarqueurs d'exposition aux Rivières Pilotes.

Ce projet (1999-2003) s'est déroulé en plusieurs phases :

- 1999 Construction des rivières artificielles : les Rivières Pilotes.
- 2000 Phase I : Validation des mésosocomes : colonisation et reproductibilité des canaux.
- 2001 Phase II-1 : Validation des réponses biomarqueurs d'exposition sur 6 substances pures.
- 2002-2003 Phase II-2 : Interactions de substances.

Un comité de suivi scientifique a été mis en place avec pour partenaires : Total, L'agence de l'Eau Adour Garonne, CEMAGREF Bordeaux (M. Coste), CEMAGREF Lyon (M. Lafont) et le LPTC (J.F. Narbonne).

Le traitement statistique des résultats a été réalisé avec l'expertise de la société KSIC (O. Brack).

La phase I a permis de mettre en évidence que le pilote était reproductible, i.e. tous les canaux peuvent être utilisés indifféremment ; elle a également permis d'étudier la colonisation : il faut un temps de colonisation minimum de 2 mois avant de démarrer toute expérimentation.

L'objectif de la phase II-1 était de valider les réponses biomarqueurs d'exposition. L'utilisation des Rivières Pilotes permet cette validation en comparant l'effet de substances sur les réponses biomarqueurs et sur l'écosystème aquatique mis en place. Cette validation a été réalisée sur 6 substances : Trichloroéthylène ; Chlorure de cadmium ; Acide monochloroacétique ; Acide thioglycolique ; Méthylparathion ; Huile anthracénique.

Les réponses biomarqueurs d'exposition ne pourront être validées que sous réserve de répondre aux questions ci-dessous :

1. Etablir des courbes doses-réponses. Existe-t-il un seuil à partir duquel on peut considérer qu'il y a un effet (impact) ? Peut-on quantifier l'impact ?
2. Mettre en évidence ou non le rôle d'alarme en comparaison avec la réponse de l'écosystème : La réponse biomarqueur est-elle sensible ? La réponse biomarqueur est-elle précoce ?
3. Les réponses biomarqueurs sont-elles prédictives d'un effet sur l'écosystème récepteur ?

Etablir des courbes doses-réponses. Existe-t-il un seuil à partir duquel on peut considérer qu'il y a un effet (impact) ? Peut-on quantifier l'impact ?

Prise individuellement, il est difficile d'interpréter une réponse biomarqueur d'exposition. Il n'est pas possible de quantifier un effet à partir des courbes doses-réponses qui sont, dans la majorité des cas, en forme de cloches ou 'U' (phénomène d'hormèse). Ce phénomène est expliqué car, quand les concentrations en substances sont trop fortes, elles induisent une altération du métabolisme cellulaire, l'organisme n'est alors plus capable de produire un système de défense correct. C'est pourquoi, il faut absolument associer les réponses biomarqueurs d'exposition à un *indice de condition*, lequel indice doit permettre d'indiquer à partir de quel seuil de pollution, l'altération du métabolisme cellulaire ne permet plus une interprétation des réponses biomarqueur d'exposition.

En condition d'utilisation adaptée (c'est à dire quand le métabolisme cellulaire n'est pas altéré), on peut proposer une méthodologie de quantification des réponses biomarqueurs ; *la grille de pollution* proposée par JF Narbonne peut être utilisée : il faudra lui associer cet indice de condition (à mettre au point). Cette grille permettra de classer les sites étudiés en comparaison à un site témoin, de référence. Elle associe des couleurs à des niveaux de qualité de l'eau.

Mettre en évidence ou non le rôle d'alarme en comparaison avec la réponse de l'écosystème :

La réponse biomarqueur est-elle sensible? La réponse biomarqueur est-elle précoce?

Un traitement statistique adapté (test du Khi2) a permis de mettre en évidence que globalement, et de manière statistiquement significative, les biomarqueurs d'exposition testés sont plus **précoces et sensibles** en comparaison avec les réponses biocoenotiques. Il existe cependant des substances (trichloroéthylène) pour lesquelles, ce set de biomarqueur n'est pas adapté.

Les réponses biomarqueurs sont-elles prédictives d'un effet sur l'écosystème récepteur?

Afin de savoir si les réponses biomarqueurs d'exposition sont **prédictives** d'un effet sur l'écosystème, une modélisation a été faite (Régression PLS (Partial Least Squares)). Le principe de ce modèle consiste à essayer de prévoir, en fonction d'une série de résultats sur biomarqueur, les réponses sur communautés (abondance d'oligochètes ou invertébrés). On a ainsi montré que les réponses biomarqueurs d'exposition dans *Corbicula fluminea* peuvent permettre de prédire l'abondance des invertébrés et oligochètes (avec un risque de l'ordre de 30%).

Phase II-1 : Interactions de substances.

Le projet devait également permettre de caractériser quels types d'interactions de substances peuvent être observés à la fois sur les réponses biocoenotiques et biomarqueurs d'exposition : synergie ou antagonisme ?

Les interactions de substances ont été testées sur l'huile anthracénique, le cadmium, l'acide monochloroacétique et le méthylparathion.

Une modélisation des interactions a été réalisée.

La modélisation proposée par O. Brack s'appuie sur une technique d'exploitation graphique, qui se rapproche du modèle isobologique (Altenburger *et al.*, 1990). Cette approche a été élargie aux modèles ternaires. Elle permet de visualiser les effets de synergies et antagonismes à un niveau de confiance présélectionné. On obtient ainsi les résultats suivants :

Pour les mélanges 2 à 2 :

- *Communautés* : On note une prédominance des effets moyens (de l'ordre de 50%), 10 à 20% de synergies, 20% d'antagonismes.
- *Réponses biomarqueurs* : On note une prédominance des effets moyens avec 70% d'effet moyen l'été et 15% synergies + 15% d'antagonismes.

Pour les mélanges 3 à 3 : On note qu'il y a moins d'effet moyen pour les mélanges 3 à 3 en comparaison avec les mélanges 2 à 2 :

- *Communautés* : on observe autant de synergie, que d'effet moyen et d'antagonisme (33%, 33%, 33%).
- *Réponses biomarqueurs* : de l'ordre de 75% d'effets moyens, et autant d'effet de synergies (13%), que d'effets d'antagonismes (13%).

Globalement, les réponses biomarqueurs montrent plus d'"effet moyen" que les réponses communautés.

Perspectives

Sous réserve de plus de validation, les réponses biomarqueurs pourraient permettre la surveillance de la qualité de l'eau de nos rivières dans le cadre de la DCE : C'est donc le rôle d'alarme qui serait exploité. Cette alarme pourrait-elle se substituer à l'analyse des 33 substances dans les masses d'eau où le bon état chimique est déjà atteint ? Cela suppose-t-il que le set de biomarqueurs soit validé sur les substances en question ?

Est-il nécessaire de développer de nouveaux biomarqueurs ? : Biomarqueurs d'effets ?

Les premières conclusions sur la prédictivité sont intéressantes. Il faudrait cependant les vérifier : d'une part s'assurer que cette prédictivité est généralisable à d'autres substances, d'autre part se demander si la prédictivité sur l'abondance est suffisante, comment faire pour prendre en compte la prédiction de l'état d'un écosystème aquatique ?