

Comment détecter l'effet des polluants sur les cours d'eau?

Un nouveau procédé à deux étapes a été mis au point par le groupe de travail d'écotoxicologie de l'EAWAG pour détecter d'éventuels effets toxiques des polluants sur les cours d'eau. Ce procédé permet de déterminer le potentiel écotoxicologique d'un grand nombre d'échantillons d'eau. Il a été conçu pour pouvoir tester les échantillons d'eau par rapport à tous les modes d'action toxiques importants à l'heure actuelle. Le procédé a été élaboré pour être intégré au système modulaire gradué suisse et ouvre de nouvelles voies dans le domaine de l'évaluation de l'état des cours d'eau d'un point de vue écotoxicologique.

Le système modulaire gradué suisse comprend des méthodes destinées à l'étude et à l'évaluation des cours d'eau [1, voir également l'article de A. Peter, p. 7]. Ce système est basé sur le concept d'évaluation globale des cours d'eau qui tient compte des considérations hydrologiques et morphologiques, des éléments biologiques et des aspects chimiques et écotoxicologiques. On connaît cependant encore assez peu les possibilités qu'offre une évaluation écotoxicologique des cours d'eau. C'est pourquoi un groupe de travail interdisciplinaire de l'EAWAG a mis au point en collaboration avec des experts internationaux un module consacré à cet aspect.

Substances toxiques pour l'environnement

Sur les 5 millions de composés chimiques actuellement connus, 80 000 sont employés et de 500 à 1000 viennent s'y ajouter chaque année [2]. Lors de leur production, utilisation ou élimination, ils se retrouvent aussi dans l'environnement. Ils représentent donc un danger potentiel pour les écosystèmes comme p. ex. pour les cours d'eau. Comme l'ont montré des études menées sur les poissons, même des concentrations de polluants assez faibles peuvent avoir des effets dommageables (cf. article de P. Holm, p. 23). Le problème réside dans le fait que ces faibles concentrations se trouvent souvent en-dessous du seuil de détection des méthodes d'analyse chimique dont on dispose actuellement. Il existe d'autre part des composés chimiques qui

ne deviennent toxiques qu'en présence d'autres substances. Pour étudier les substances ou cocktails chimiques potentiellement toxiques pour l'environnement, il était donc nécessaire de faire appel à de nouveaux procédés allant au-delà des méthodes classiques de chimie analytique.

Tests classiques

Pour déterminer la toxicité des produits chimiques, les premiers tests sur les organismes aquatiques ont été mis au point dans les années 50. En plus de composés purs, on teste également depuis une vingtaine d'années des échantillons plus complexes prélevés dans l'environnement comme p. ex. les eaux usées ou les boues

d'épuration. L'avantage des tests écotoxicologiques par rapport à l'analyse chimique des eaux réside dans le fait qu'ils tiennent compte de la biodisponibilité des composés et des interactions entre polluants.

Dans les tests classiques, des organismes comme des bactéries, des algues, des puces d'eau ou des poissons sont mis en présence d'échantillons d'eau pour une durée donnée. La toxicité d'un échantillon est déterminée en mesurant le taux de mortalité ou l'inhibition de croissance des organismes exposés ou estimée par l'observation d'éventuelles anomalies comportementales. Ces tests sont en général de courte durée et ne fonctionnent donc qu'avec des concentrations de polluants relativement élevées, telles qu'on les trouve dans les eaux usées mais rarement dans les cours d'eau. Ils ne mesurent d'autre part que la toxicité directe, cependant que d'autres modes d'action restent inconnus (p. ex. l'effet de substances à activité hormonelle ou de substances cancérogènes). Ces tests sont donc d'une utilité très relative pour l'évaluation écotoxicologique d'échantillons prélevés dans les cours d'eau. Les tests de longue durée réagissent également à de faibles concentrations de

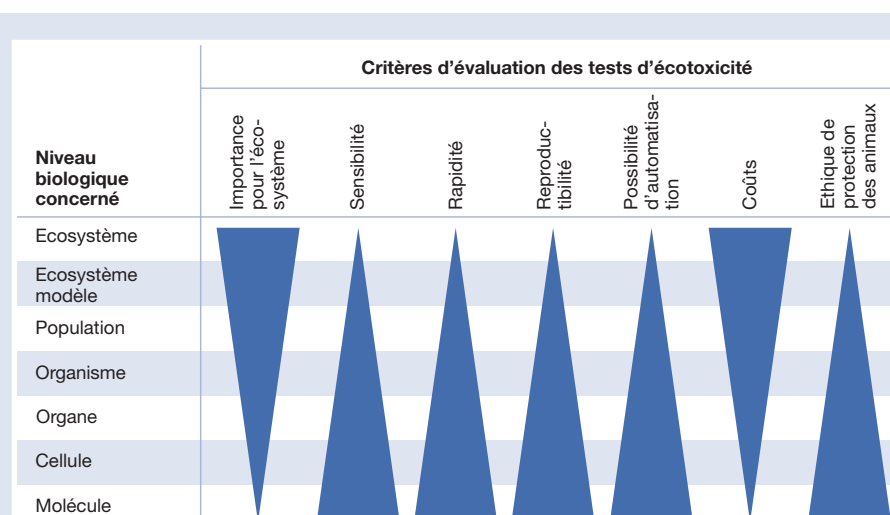
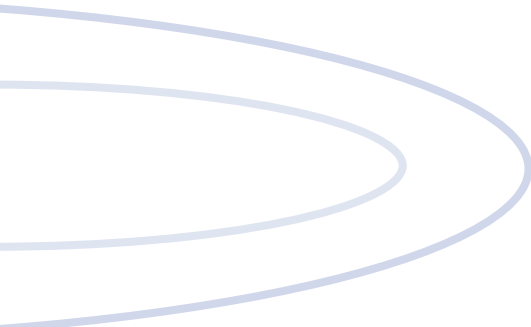
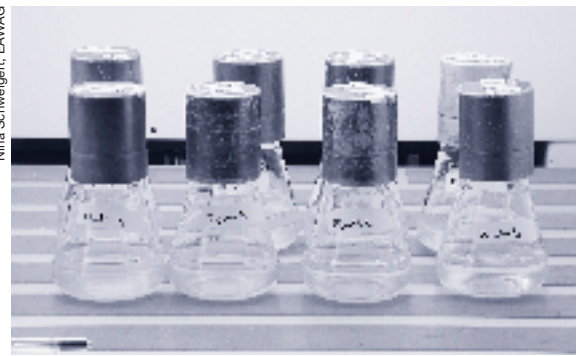


Fig. 1: Critères d'évaluation des tests d'écotoxicité. Les paramètres considérés ont plus ou moins de poids en fonction du niveau biologique considéré.



De nombreux organismes unicellulaires (ici des chlorophycées) et lignées de cellules se prêtent facilement aux cultures.

Nina Schweigert, EAWAG



polluants. Ils sont cependant difficiles à réaliser et onéreux et ne sont donc en général appliqués que si l'on dispose déjà d'indices sur le potentiel toxique de l'échantillon. La plupart des tests classiques ont été standardisés au niveau national et international, en particulier par l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) et par l'Organisation internationale de normalisation (ISO). Une standardisation

assure une sensibilité constante des organismes employés et la reproductibilité des résultats obtenus dans différents laboratoires.

Une nouvelle génération de tests

En plus des tests classiques, une évaluation écotoxicologique des cours d'eau peut faire appel à un nouveau genre de tests qui interviennent à d'autres niveaux (Fig. 1): Les

effets de polluants qui influent sur un organisme et finalement sur un écosystème se ressentent tout d'abord au niveau moléculaire. Les premiers dommages peuvent être constatés au niveau des protéines, de l'ADN ou des lipides membranaires. Si ces dommages ne sont pas réparés, ils se répercutent un peu plus tard à un niveau supérieur et on observe peu à peu une altération des cellules, des organes et de l'organisme tout entier. L'effet de polluants peut enfin se ressentir au niveau de la population, des biocénoses et des écosystèmes sous la forme d'une réduction de l'effectif des populations, d'un développement accru de maladies, d'une modification des rapports de prédation ou de changements dans le spectre des espèces. La plupart des tests de la nouvelle génération ne sont cependant pas encore standardisés.

Méthodes d'écotoxicologie moléculaire et cellulaire: Etant donné que les effets au niveau moléculaire et cellulaire sont rapides, leur détection permet une évaluation précoce du potentiel toxique des échantillons d'eau. Les tests d'écotoxicologie moléculaire et cellulaire sont en général reproductibles et sont souvent plus sensibles que les tests classiques. Les coûts qu'ils entraînent sont relativement faibles et les tests sont rapides et faciles à appliquer (Fig. 1). En écotoxicologie aquatique, les tests moléculaires et cellulaires ne sont jusqu'à présent utilisés que dans les projets de recherche, alors qu'ils font depuis longtemps partie des analyses de routine dans le domaine de la toxicité sur les mammifères. Ils ont d'autre part l'avantage de pouvoir mettre en évidence, en plus de la toxicité directe, d'autres modes d'action importants.

Un nouveau concept pour l'évaluation des cours d'eau

Un nouveau concept a vu le jour sur la base des faits et réflexions exposés plus haut (Fig. 2): L'étude des échantillons d'eau s'y déroule en deux étapes. Tout d'abord, la toxicité potentielle des échantillons d'eau est déterminée à l'aide de tests moléculaires

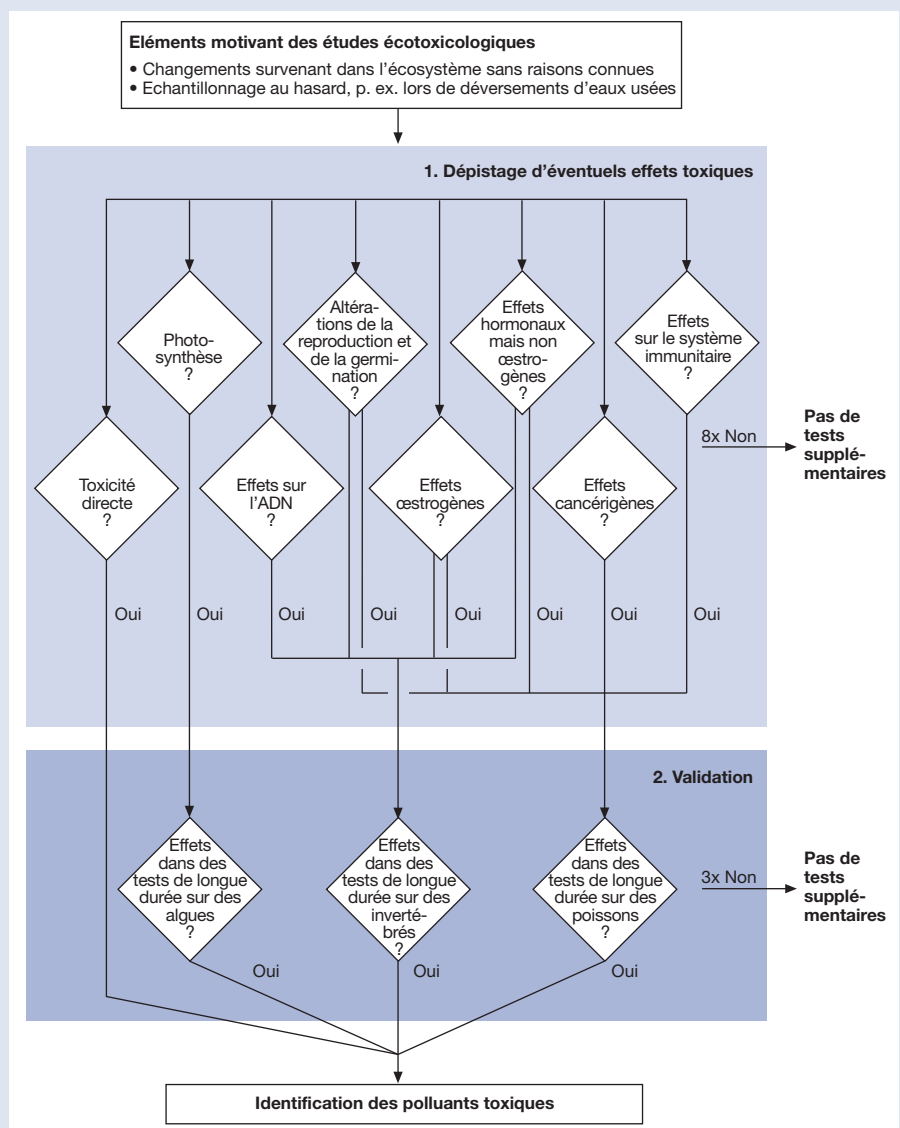
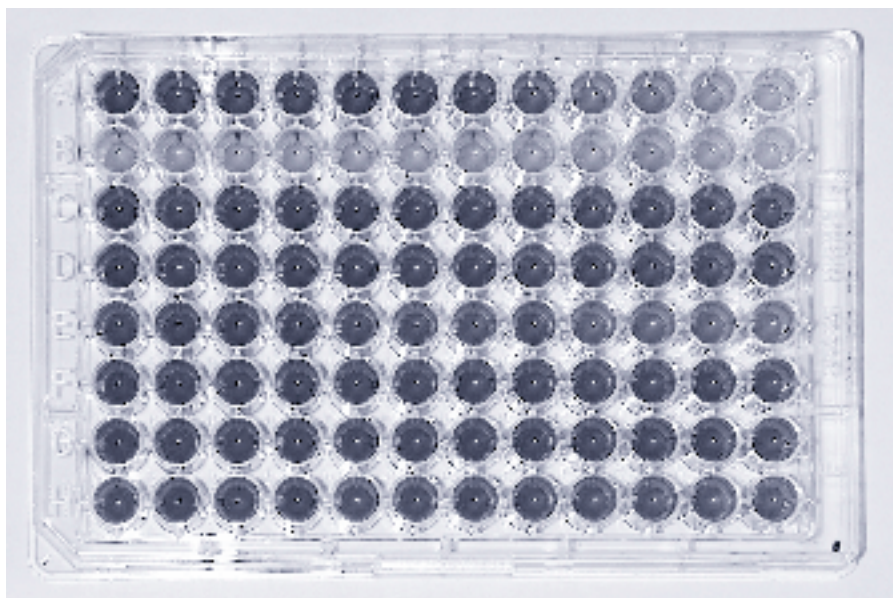


Fig. 2: Procédé à deux étapes du module «écotoxicologie» pour l'évaluation des cours d'eau.



Nina Schweigert, EAWAG

Effets œstrogènes d'eaux usées d'origines diverses sur des cellules de levure génétiquement modifiées. Tubes foncés: effet œstrogène; tubes clairs: pas d'effet œstrogène.

lares et cellulaires. Ensuite, les réactions positives de la première étape sont validées, c'est à dire que l'on vérifie si le potentiel toxique est également mesurable ou non au niveau de l'organisme. La décision d'effectuer ces tests peut être prise suite à des déversements d'eaux usées ou au développement d'anomalies au niveau biologique. En complément, des échantillons peuvent être pris au hasard pour détecter des sites menacés.

Etape 1: Le potentiel de toxicité d'un échantillon d'eau est déterminé à l'aide de cultures de cellules et d'organismes unicellulaires. Les tests doivent permettre de déterminer non seulement la toxicité directe mais aussi des modes d'action plus subtils de la part des polluants. C'est pourquoi les échantillons d'eau ne sont pas soumis à un seul test mais à une batterie de tests comprenant divers tests cellulaires. Au niveau moléculaire, des lignées de cellules recombinées d'invertébrés et de poissons sont exposées pour déterminer les propriétés nocives telles que le potentiel cancérigène, l'activité hormonale ou la toxicité pour le système immunitaire. Les algues unicellulaires représentent le règne végétal pour la détermination des effets sur la photosynthèse. Enfin, la toxicité directe des échantillons d'eau est déterminée à l'aide de bactéries. La première étape ne fait pas appel à des organismes plus évolués comme les puces d'eau ou les poissons. Si tous les test de l'étape 1 donnent des résultats négatifs, les échantillons d'eau ne sont pas considérés comme dangereux. Il est inutile d'effectuer d'autres analyses.

La batterie de tests présentée ici doit évidemment être adaptée en fonction des be-

soins actuels. D'une part, les tests doivent être remplacés le cas échéant par des tests plus simples ou plus sensibles. D'autre part, cette série peut être complétée par des tests si d'autres modes d'action pas encore connus actuellement, sont découverts.

Etape 2: Les études ne sont poursuivies que sur les groupes d'organismes qui ont répondu de manière positive à l'étape 1. Ceci permet d'éviter des tests inutiles sur les animaux. Les espèces utilisées devraient être caractéristiques des écosystèmes analysés. Il doit en tout cas s'agir d'espèces relativement sensibles qui de plus se prêtent aux conditions de captivité de laboratoire. Les effets observés à l'étape 1 sont étudiés plus en détail sur ces organismes dans le cadre de tests de longue durée. Si la réponse est cette fois-ci négative, il faut conclure qu'il existe une toxicité potentielle au niveau cellulaire, mais que cet effet ne se ressent pas au niveau de l'organisme. Les échantillons d'eau ne sont alors pas considérés comme nocifs. Si la toxicité est par contre confirmée à l'étape 2, il faut tenter d'identifier les polluants qui la causent pour pouvoir prendre des mesures correctrices. Si l'effet mesuré est dû à l'action conjuguée de plusieurs polluants, il est cependant difficile voire impossible d'identifier chacun d'eux. Dans ce cas, il convient de procéder de manière pragmatique en tentant par exemple de réduire la concentration de tous les polluants présents.

Conclusion

Ce nouveau concept innovant constitue une approche prometteuse de l'évaluation écotoxicologique des cours d'eau. Il permet de tester un grand nombre d'échantillons

d'eau par rapport à tous les modes d'action important à l'heure actuelle. Le nombre de tests sur les animaux est considérablement réduit par rapport aux méthodes classiques. Ce n'est que dans le cas où une toxicité potentielle est constatée dans un échantillon d'eau, que des organismes sont soumis à des tests de longue durée. Il reste maintenant à développer le procédé jusqu'à ce qu'il soit prêt à être appliqué de manière courante. Dans une prochaine étape, il faudra régler les problèmes encore non résolus et tester le procédé dans des études de cas préliminaires.



Nina Schweigert a élaboré en collaboration avec les co-auteurs nommés ci-dessous le présent concept d'évaluation écotoxicologique des cours d'eau dans le cadre d'une recherche post-doctorale. Depuis fin avril 2001, elle a réintégré l'EAWAG pour mettre ce concept en pratique.

Co-auteurs:

Renata Behra dirige le groupe de travail «*Ecotoxicologie: populations et biocénoses*».

Rik Eggen dirige la division de recherche «*Microbiologie de l'environnement et écotoxicologie moléculaire*».

Beate Escher dirige le groupe de travail «*Evaluation des substances chimiques en fonction de leurs modes d'action*».

Patricia Holm dirige le projet «*Réseau suisse poissons en diminution*».

[1] BUWAL (1998): Modul-Stufen-Konzept. Mitteilungen zum Gewässerschutz Nr. 26, 43 p.

[2] Fent K. (1998): Ökotoxikologie. Thieme Verlag, Stuttgart, 288 p.