

Université Abbes Laghrour -Khenchela-
Faculté des sciences de la nature et de vie
Département d'Ecologie et Environnement

Filière : Ecologie et environnement



**Matière : CONTAMINATIONS ET IMPLICATION DES
MECANISMES BIOLOGIQUES**

2^{ème} Année Master (Ecologie fondamentale et appliquée)

UEF2

**Volume Horaire Globale (VHG):33.75 h,
Cours: 1.5h, TD: 0.75h, Autre : 41.25 h.**

Coefficient: 3 Crédits : 6

Réalisé par : Dr.DIB Dounia

Année universitaire : 2018-2019

PROGRAMME DE LA MATIERE SELON LE CANEVAS HARMONISE DE LA FORMATION

Intitulé de la Matière : Contaminations et implications des mécanismes biologiques

PREMIERE PARTIE : Toxicologie /environnement

- * Pollutions: origines et classification
- * Formes chimiques des micro-polluants (et dans l'eau de mer)
- * Evaluation de la toxicité d'un polluant : tests de toxicité.
- * Contrôle de la qualité des eaux : notion de bioévaluation

DEUXIEME PARTIE : Ecophysiologie/écotoxicologue/bioindicateurs

- * Bio accumulation des micro-polluants par les organismes marins : notion de bio indicateurs.
- * Effets cellulaires et notion de biomarqueurs de pollution (métalloprotéines, acétylcholinestérase, peroxydation lipidique, phénoloxydase....)
- * Effets de la pollution sur la physiologie des organismes.

TROISIEME PARTIE : Impact de la pollution sur la santé humaine

- * Bio manufaction.
- * Exemples d'intoxications.

Travaux dirigés :

- Sortie sur terrain
- Collectes d'échantillons
- Exercices

INTRODUCTION GENERALE

La contamination de l'environnement par des produits toxiques est un domaine qui est sous la juridiction des ministères de l'Environnement du monde entier. La pollution est une dégradation de l'environnement par l'introduction dans l'air, l'eau ou le sol de matières n'étant pas présentes naturellement dans le milieu. Elle entraîne une perturbation de l'écosystème dont les conséquences peuvent aller jusqu'à la migration ou l'extinction de certaines espèces incapables de s'adapter au changement. Souvent anthropique, c'est à dire due directement ou indirectement à l'activité humaine, la pollution peut cependant résulter de phénomènes naturels tels qu'une éruption volcanique ou solaire.

Les polluants environnementaux de tous genres contaminent l'eau, l'air et la terre mettant en péril les humains et les écosystèmes. De plus, ils sont souvent sources de conflit entre populations et industrie. En adoptant une approche écosystémique globale pour examiner les intérêts divergents et leurs conséquences, les approches écosanté s'efforcent de protéger la santé tout en assurant l'équilibre des besoins des divers intervenants et la préservation de l'écosystème.

Partout dans le monde, des milliers de produits chimiques constituent un risque pour les populations et les écosystèmes. Les populations des pays en développement sont particulièrement vulnérables, car elles sont généralement mal informées. Souvent, leurs pays ne disposent pas de réglementation adéquate et ont peu de ressources pour appliquer celle existante. De plus, des obstacles empêchent leur accès à des technologies « plus propres ».

« Sola dosis fecit venenum »

Paracelse (1493-1541)



PREMIERE PARTIE : Toxicologie /environnement

I.1. Pollutions: origines et classification :

I.1.1. Origines des pollutions

A- Naturelle : Emissions volcaniques, Séismes, Sels, Toxines Algales...

B- Anthropique :

* **production d'énergie**: aéropolluants produits lors de la combustion du pétrole et du gaz naturel (SO₂, NOX, HAP, CO₂...)

* **diversification des polluants chimiques et accumulation des déchets**: substances chimiques de synthèse (médicaments, PCB, POPS, radionucléides)

* **pollutions dues à l'agriculture et à l'élevage intensif**: engrais chimiques (azotés, phosphorés et potassiques...), œstrogènes (Animaux)...

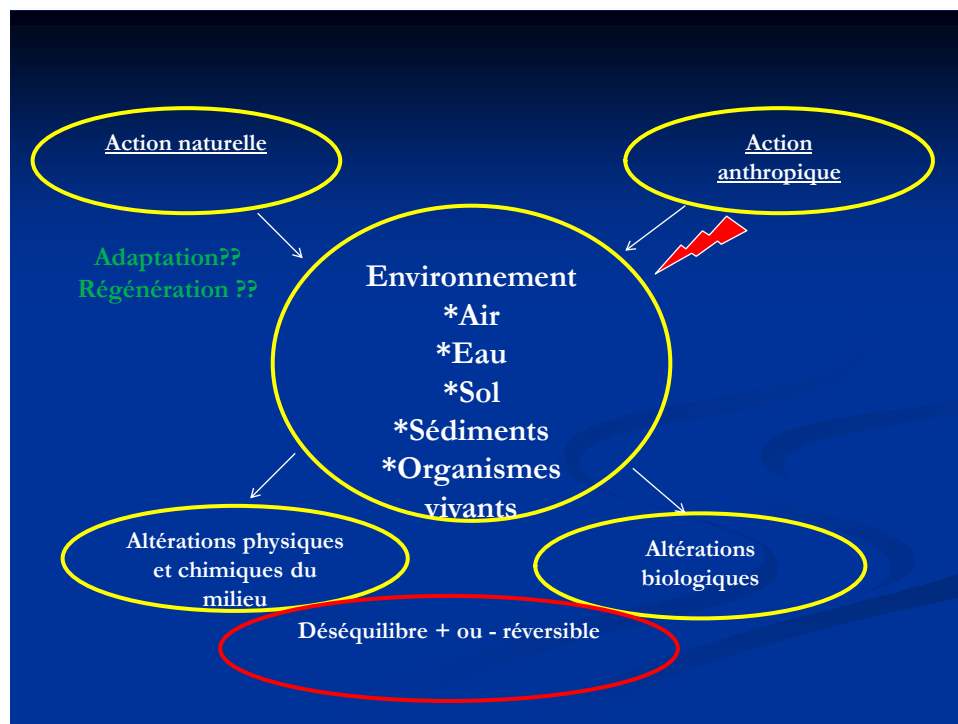


Figure 1 : *Origine des pollutions de l'environnement*

Quelque soit l'origine de la pollution (naturelle ou anthropique) elle peut être ponctuelle ou diffuse

Les trois compartiments physiques de la biosphère ne s'échappent pas à la pollution en tant qu'il y en a une certaine continuité :

AIR: polluants gazeux (dérivés du carbone, dérivés du soufre, dérivés de l'azote et l'ozone) et polluants particulaires (aérosols: grosses particules sédimentables, particules semi-fines, particules insédimentables et brouillards)

SOL: Agriculture moderne (engrais, pesticides) et Industries

EAU: thermique, chimique et biologique

+++ SEDIMENTS



Figure 2 : Exemples de pollutions ponctuelle en (a) et diffuse en (b)

I.1.2. Classification des pollutions :

A-Classification systématique : se repose sur la nature de l'agent polluant. On distingue trois catégories, la pollution de nature :

***Physique :** Rayonnement ionisant, réchauffement artificiel...

***Chimique:** hydrocarbures, détergents, métaux ...

***Biologique :** germes, parasites, toxines algales...

B-Classification fonctionnelle : qui se repose sur les caractéristiques des agents polluants. On distingue des polluants qui provoquent des pollutions :

***Particulaires :** regroupe tout les agents qui se trouvent sous forme de particules. Exemple des Argiles entraînés en suspension dans les eaux naturelles ce qui pose des problèmes de respiration pour les poissons (colmatage des branchies).

***Dissipatives :** Exemple des acides (H₂SO₄) et des bases

***Conservatives :** les polluants conservatifs se regroupent sous le nom de micropolluants minéraux dont les métaux et métalloïdes (Fer, Cadmium,...). Cette nomination leur est attribué du fait qu'ils ne se dégradent pas.

***Dégradables :** les polluants dans l'environnement subissent l'action des rayonnements solaires, radiations ionisantes... (action physique) et celle des micro-organismes (bactéries, champignons). Cette dégradation est soit complète (ultime) ou non complète (primaire).

I.2. Formes chimiques des micropolluants (et dans l'eau de mer)

I.2.1.Définitions :

***Agents polluants:** agents qui exercent des influences perturbatrices sur l'environnement, leurs origine est soit naturelle ou artificielle. Ce sont des agents de nature chimique, physique ou biologique. Leurs contrôle se fait principalement par [prévention](#).

***Agents contaminants:** agents qui ont des teneurs élevées par rapport aux teneurs naturelles normales (déséquilibre des teneurs naturelles). Ils sont de nature chimique ou microbiologique. Leurs contrôle se fait par la surveillance des critères de qualité ([Normes](#)).

***Agents toxiques:** agents qui à cause de leurs teneurs excessives occasionnent des effets néfastes dans des organismes biologiques. Leurs origine est soit naturelle ou artificielle. Ils sont de nature physique ou chimique. Leurs effet est lentement réversible sauf les cas de létalité pour cela leurs contrôle se fait par surveillance des [seuils de toxicité](#).

Tableau 1 : *Critères et classification des agents*

Critères	Classification par ordre croissant
Nombre de composés	Agents toxiques<contaminants<polluants
Déséquilibre provoqué	polluants<contaminants<Agents toxiques

Etude des polluants et leurs effets

Chimie (formules chimiques/ réactions)

Physique (caractéristiques de densité , volatilité, dégradation...)

Biologie (biologie des organismes, cycle de vie, démographie)

Ecologie (interactions biocenose/biotope)

Toxicologie (dose/ concentration/ seuils de toxicité)

+++Science de l'Air, de l'Eau et des Sols

Figure 3 : Domaines de connaissance dans les études de contaminations

I.2.2. Chimie et comportement des polluants

La connaissance du comportement des polluants permet de savoir sous quelle forme ils se présentent : solide (déchets riches en métaux lourds), liquide (carburants, solvants) ou gaz (oxydes d'azote et de soufre).

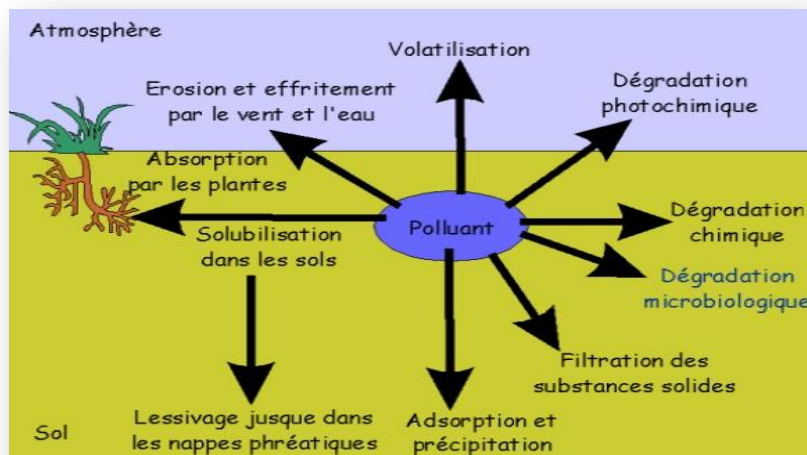


Figure 4 : Processus influant sur le comportement et la migration des contaminants au niveau du sol.

I.2.3. Caractéristiques physico-chimiques gérant le comportement des contaminants

- a- **Solubilité dans l'eau ou hydrosolubilité :** la solubilité définit la concentration d'une substance se dissolvant dans l'eau lorsque l'eau et la substance sont en équilibre.

Cette propriété indique la tendance à la mobilisation de la substance par lessivage lors d'épisodes pluvieux ou par ruissellement ou infiltration.

- b- **Densité** : en chimie ; on définit la densité d'une espèce chimique par rapport à l'eau de la façon suivante :

$d = (\text{masse d'un volume donné de l'espèce chimique}) / (\text{masse d'un même volume d'eau})$.

La densité affecte fortement le comportement des polluants liquides dans le sol et le sous sol. Si le liquide est immiscible (cas des hydrocarbures, par exemple), le contaminant s'accumulera de préférence en surface de la nappe si sa densité est inférieure à 1, et au plancher de celle-ci si elle est supérieure à 1.

- c- **Stabilité** : la dégradation d'un polluant est souvent représentée par sa vitesse de dégradation qui est caractérisée par un temps de demi-vie. Ce temps représente le temps durant lequel une fraction représentant 50% de la quantité initiale de la substance est dégradée. Cette dégradation est réalisée par des réactions purement chimiques (dégradation photochimique) ou biologique (à l'aide de microorganismes) ou les deux à la fois. Les deux voies de dégradation cités au dessus sont plus ou moins complètes : le résultat de la dégradation complète sont l'eau et le dioxyde de carbone vs des molécules plus ou moins toxiques en cas de dégradation accomplie.

Certains polluants qui ne se dégradent pas sont appelés conservatifs.

- d- **Kow (polarité ou hydrophobicité)** : C'est le rapport de concentration à l'équilibre d'un composé entre une phase eau et une phase n-octanol. L'octanol prend le comportement de la matière organique dans l'eau et le sol et des graisses (tissu adipeux et lipides) chez les organismes vivants. Le Kow reflète la manière dont un contaminant est mobilisé lors des périodes de crues et sa biodisponibilité/ bioaccumulation chez les organismes vivants.

Note : le **Koc**, ou coefficient d'adsorption au carbone organique des sols, définit la distribution d'un composé entre les phases solide et liquide d'un sol.

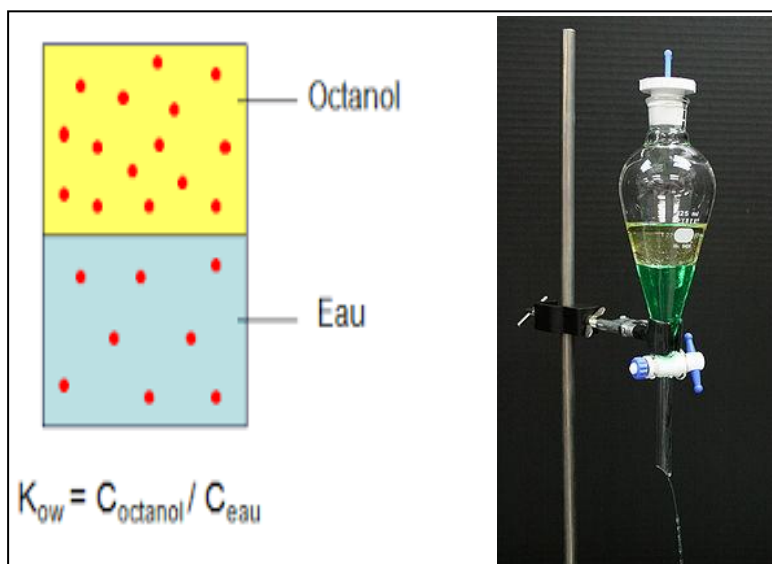


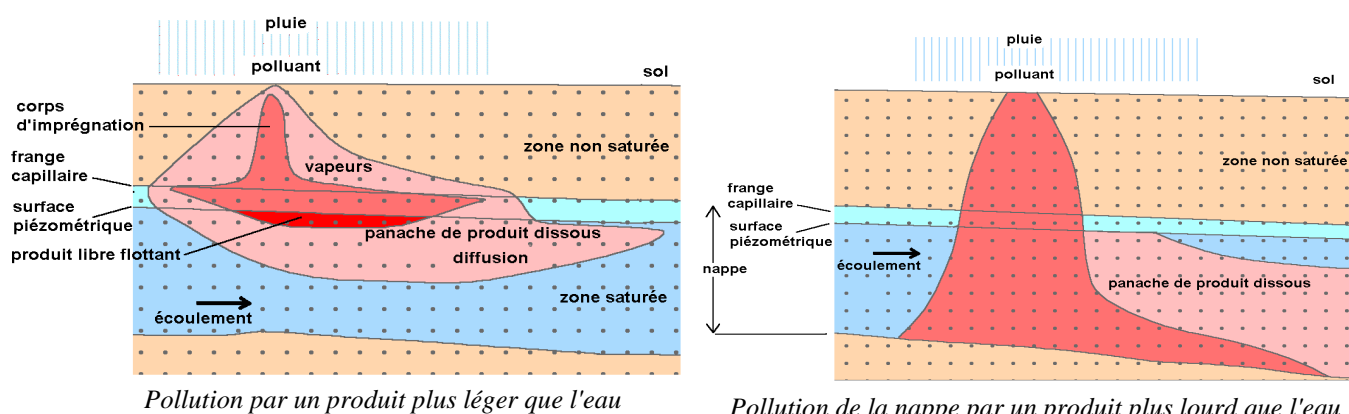
Figure 5 : Dispositif de détermination du K_{ow}

a- **Volatilité :** la volatilité est fonction de la température et son unité de mesure étant le Pa . un composé est considéré comme volatil si son point d'ébullition est inférieur à 300°C exemple : naphthalène.

Cette propriété est importante dans le choix d'une technique de dépollution.

b- **pKa :** c'est la constante d'ionisation acide-base. Elle définit la tendance à l'ionisation des composés dans les milieux dont le pH est compris entre 5 et 8. Plus cette valeur est élevée, plus faible le caractère acide du composé.

c- **La viscosité :** elle s'exprime en poise. Ce paramètre influe sur la vitesse de déplacement du contaminant dans sa phase. Plus la viscosité est élevée plus le déplacement sera lent. Exemple des huiles.



Pollution par un produit plus léger que l'eau

Pollution de la nappe par un produit plus lourd que l'eau

Figure 6 : Comportement des polluants vis-à-vis de la nappe souterraine

Tableau 2: conséquences des propriétés intrinsèques des polluants sur leur comportement.

propriété	signification	Incidence
Hydrosolubilité	Tendance à la mobilisation de la substance par lessivage	Une forte solubilité constitue un facteur aggravant des pollutions Au même temps les polluants très solubles sont facilement biodégradables
Densité	/	Comportement vis-à-vis de la nappe souterraine (fig.6)
Temps de demi-vie	Stabilité	Persistance dans l'environnement
Kow Koc pKa	rétenion	Influe sur la mobilisation d'un composé et sa biodisponibilité/ bioaccumulation.
Volatilité	/	Influe sur la manière dont un polluant se libère par évaporation naturelle.
viscosité	Vitesse de déplacement	Cinétique des modèles

I.2.4. Formes chimiques des micropolluants

A-Les métaux et métalloïdes (micropolluants minéraux)

Les caractéristiques des micropolluants métalliques sont généralement les suivantes :

- **Pas biodégradables** (dégradation par des organismes vivants)
- **Toxiques cumulatifs** (accumulation dans les tissus des organismes vivants)
- **Toxiques quand ils sont présents en grande quantité**, mais, pour nombre d'entre eux, Indispensables à la vie en petite quantité (oligo-éléments).

A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent

ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons. Cette " bioaccumulation " explique leur très forte toxicité.

Il faut préciser qu'il existe 2 catégories de métaux : ceux qui sont indispensables à la vie, comme le cuivre dont la carence, aussi bien que l'excès, peut provoquer des maladies, et ceux qui ne le sont pas comme le cadmium.

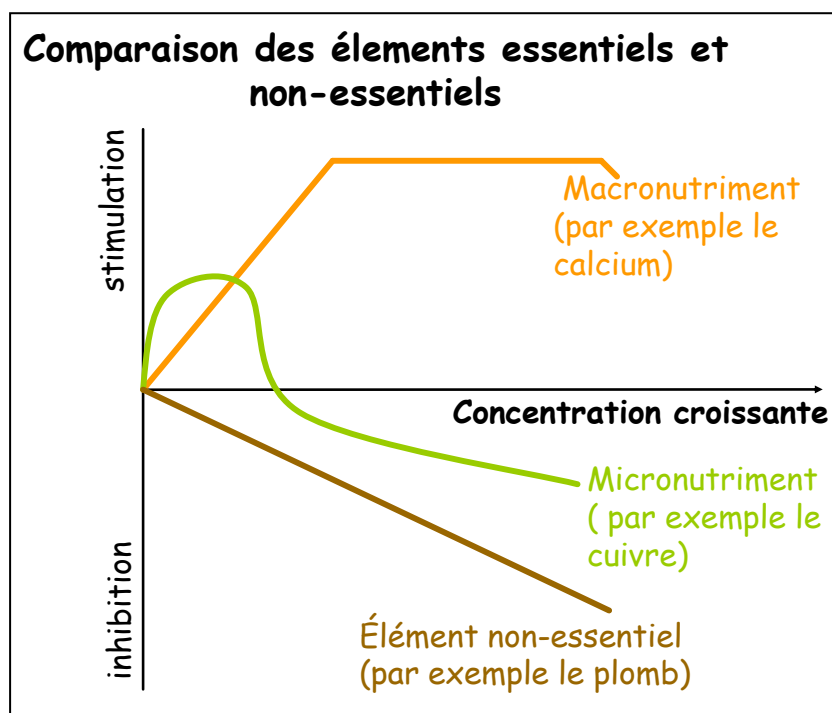


Figure 7 : Comparaison entre éléments essentiels et non- essentiels

Généralement, lorsque l'on recherche des micropolluants minéraux dans le milieu et dans les rejets, ce sont l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb et le zinc qui sont analysés. Ce sont, les 8 métaux identifiés comme «substances toxiques dont les rejets doivent être réduits d'au moins 50%».

La présence de métaux dans le milieu est d'origine naturelle, du fait de la nature géochimique des terrains drainés par les cours d'eau ou l'aquifère. C'est le fond géochimique qui explique dans ce cas les teneurs observées, notamment dans les sédiments. Les activités anthropiques peuvent conduire à une augmentation de ces concentrations naturelles.

*La dégradation

Désigne toute action physico-chimique aboutissant à la minéralisation plus ou moins complète d'une molécule.

*La biodégradation

Est une dégradation biologique effectuée par les êtres vivants (bactéries, champignons...). Elle est due à l'abondance et à la variété des micro-organismes dans le milieu considéré. L'attaque d'une molécule chimique par des micro-organismes a pour aboutissement sa minéralisation et l'obtention de métabolites de faibles poids moléculaires.

-La biodégradation primaire : qui est une attaque partielle de la molécule Dans certains cas, elle peut aboutir à l'apparition de métabolites persistants, plus biodisponibles et/ou plus toxiques que la molécule initiale.

-La biodégradation ultime : qui est une dégradation complète conduisant à la formation de dioxyde de carbone, méthane, eau, éléments minéraux

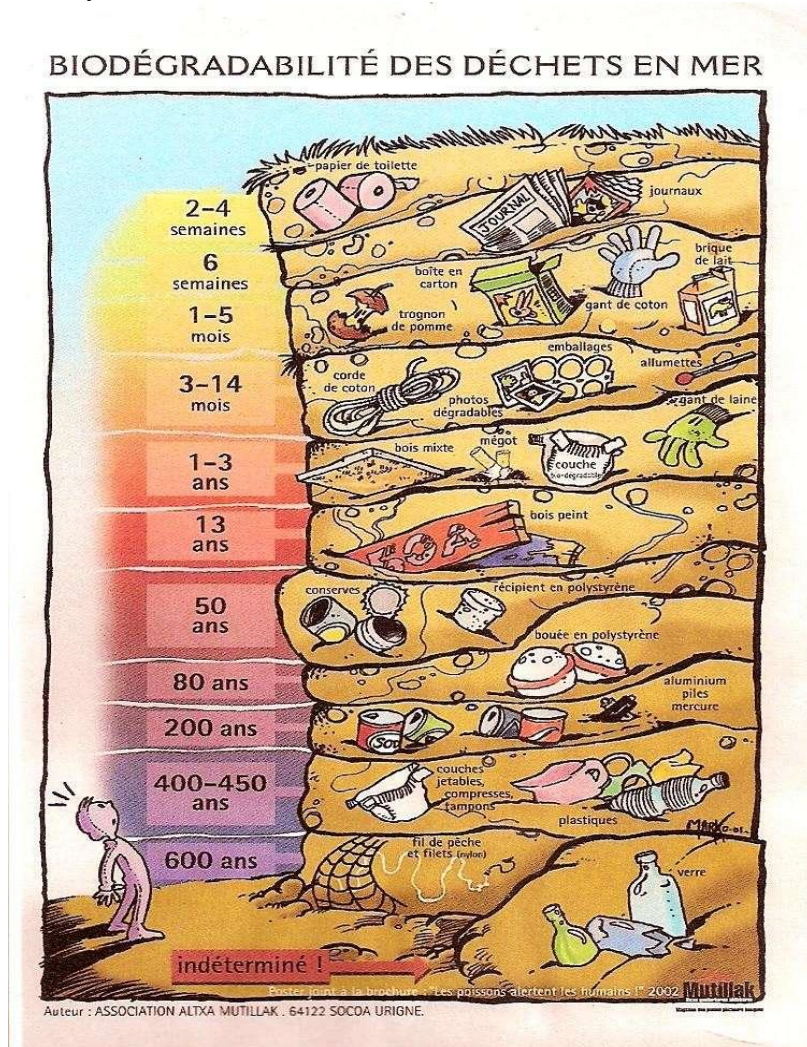


Figure 8 : Temps de dégradation de déchets en milieu marin

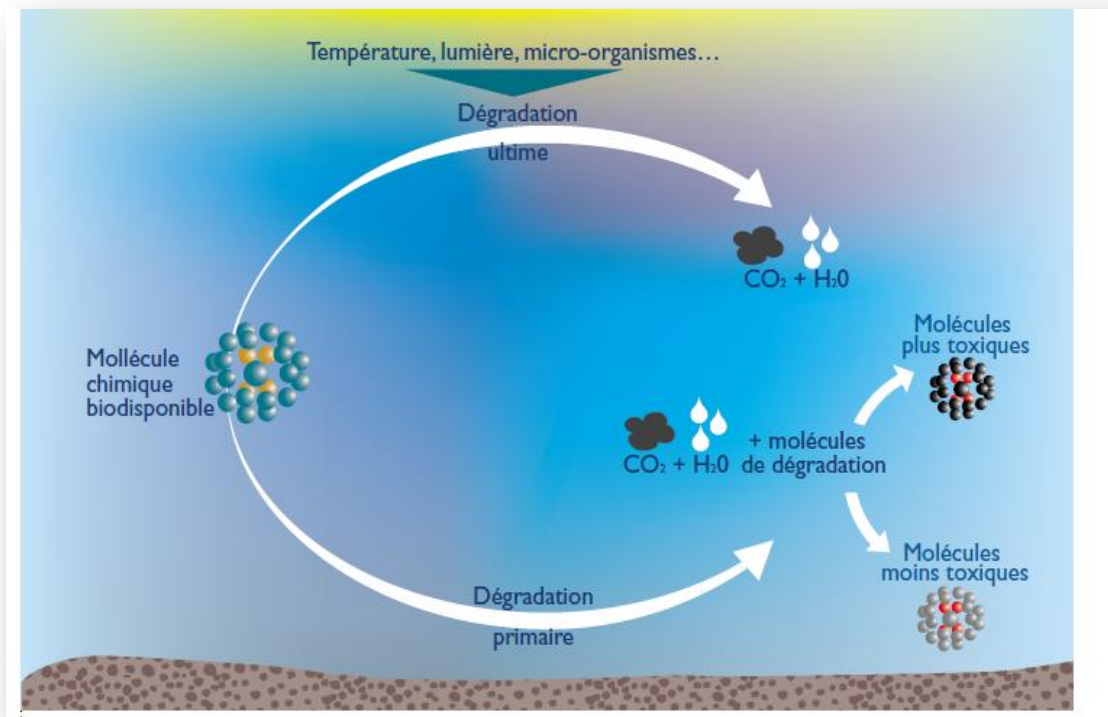


Figure 9 : Différentes voies de dégradation

Note : Une substance est facilement biodégradable si : $DBO5/DCO \geq 0,5$

Exemples :

Substances peu biodégradables : *organochlorés (DDT), PCB...*

***Facteurs limitant de la biodégradation**

-La biodisponibilité

La biodisponibilité se définit comme la propriété d'un élément ou d'une substance d'atteindre les membranes cellulaires des organismes vivants. Il s'agit d'un des paramètres essentiels de la toxicité car un changement de la biodisponibilité d'un polluant équivaut à un changement de toxicité. C'est le statut physique (adsorbé, solubilisé) ou chimique (complexé, ionisé) dans lequel se trouve un polluant et qui conditionne son écotoxicité. Un polluant biodisponible est un polluant auquel les organismes sont exposés.

-La bioaccumulation

La bioaccumulation est l'accumulation de substances toxiques dans les tissus des organismes vivants. C'est le cas par exemple des toxiques cumulatifs qui vont s'accumuler dans les tissus des organismes et dont les effets toxiques ne se produiront que lorsque leur dose d'effets sera atteinte.

Tous les organismes vivants sont ainsi capables, à divers degrés, d'accumuler des substances toxiques, ce qui peut, dans un certain nombre de cas, entraîner des phénomènes de transfert et d'amplification dans la chaîne alimentaire, avec des teneurs observées d'autant plus fortes que l'organisme est élevé dans la chaîne alimentaire.

Le paramètre utilisé est le facteur de bioconcentration (BCF) qui mesure la concentration du polluant dans l'organisme. Cependant, très couramment on s'appuie sur le coefficient de partage octanol/eau (ou K_{ow}) pour prédire la capacité d'un polluant à se bioaccumuler.

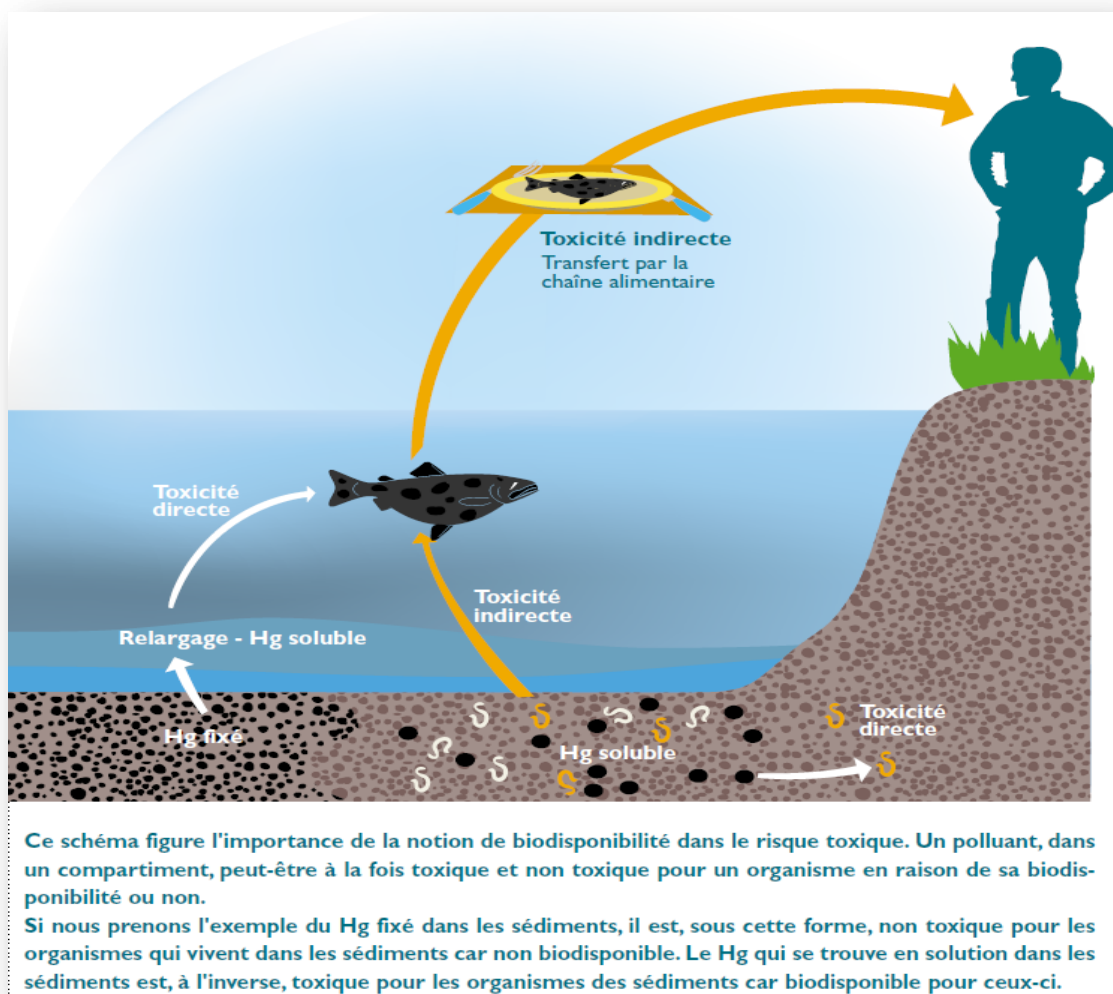


Figure 10 : *Importance de la biodisponibilité des contaminants*

Cette valeur est une estimation du partage de la substance entre l'eau et les graisses des tissus, est donc utilisée pour prédire l'accumulation de la substance dans les tissus graisseux. Le Kow est souvent exprimé par son logarithme, $\log Kow = \log P$. Il est généralement considéré qu'une substance est bioaccumulable si :

$Kow \geq 1000$, ou $\log P \geq 3$.

Par ailleurs :

BCF = concentration de polluant dans l'organisme/concentration de polluant dans le milieu

Il est appréhendé par le calcul suivant :

$BCF = Kow \times \text{concentration de la substance dans les lipides}$

Une substance s'est bioaccumulée si $BCF > 100$.

Ce paramètre confirme qu'une substance qui est potentiellement bioaccumulable s'est effectivement bioaccumulée.

Exemples :

Pentachlorophénol $\log P = 5,12$: substance bioaccumulable

Chloroforme $\log P = 1,97$: substance non bioaccumulable

Note : Cependant, certaines interactions entre polluants peuvent entraîner des modifications physiologiques responsables de variation dans les phénomènes de bioaccumulation.

Exemples :

Le mélange cuivre + cadmium : ils se bioaccumulent plus lorsqu'ils sont en mélange que lorsqu'ils sont seuls. C'est le phénomène de synergie entre polluants.

Le mélange DDT + dieldrine + métoxychlore : Le DDT et la dieldrine réduisent la bioaccumulation de métoxychlore. C'est le phénomène d'antagonisme entre polluants.

* **L'arsenic (As)** : est un constituant naturel de la croûte terrestre. L'arsenic contenu dans les fonds géochimiques représente une des principales sources de contamination des cours d'eau et des eaux souterraines, mais il peut également pénétrer dans l'environnement par des processus d'origine anthropique. Il est essentiellement utilisé en métallurgie, tannerie, coloration des verres et céramiques, dans la fabrication de pesticides et pour la conservation du bois.

La toxicité de l'arsenic dépend essentiellement de sa forme chimique : ses composés minéraux sont plus toxiques que ses composés organiques.

Il est classé comme «substance très toxique pour l'environnement aquatique»

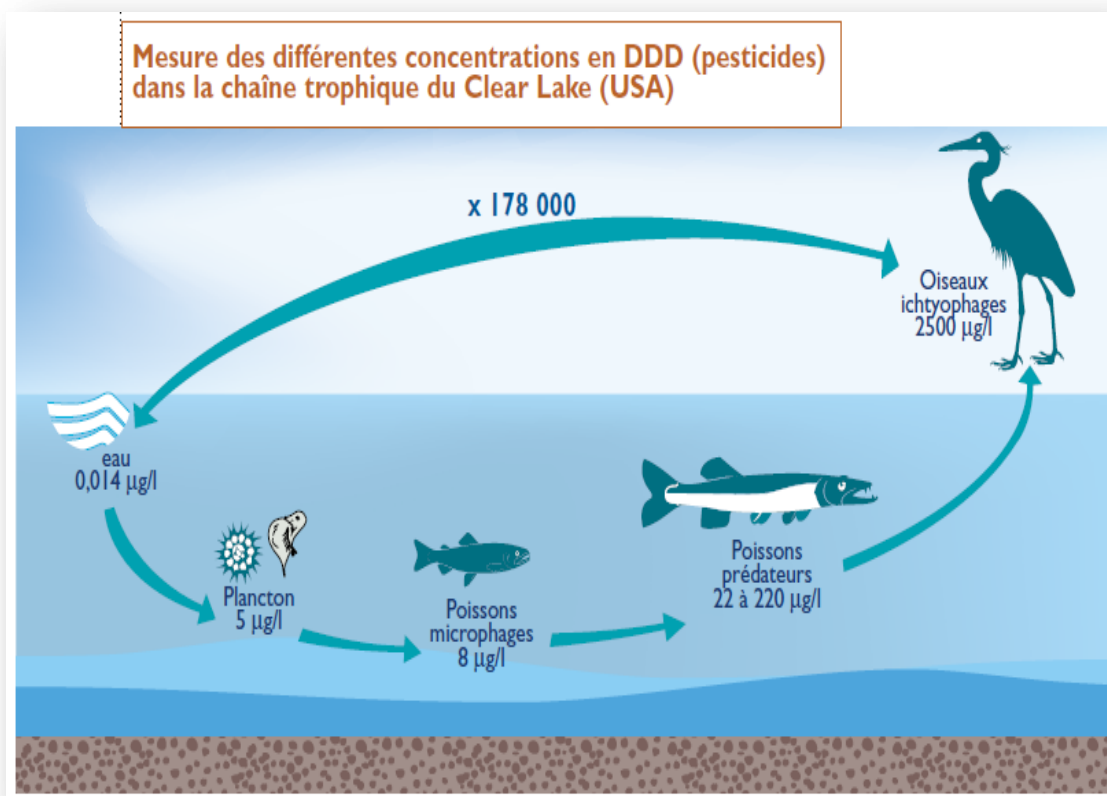


Figure 11 : Bioconcentration/ bioaccumulation d'un pesticide

***Le cadmium (Cd)** : est un métal lourd peu répandu dans la croûte terrestre. Il ne se trouve pas à l'état élémentaire dans la nature ; il est généralement présent dans des minerais de zinc ou de plomb. Sa présence dans les eaux est surtout d'origine anthropique, notamment les rejets industriels liés à la métallurgie, au traitement de surface, à la fabrication de céramique et à l'industrie des colorants, mais également à l'usure des pneumatiques sur les chaussées.

Il est bioaccumulable et répertorié comme toxique sous ses formes sulfure et oxyde de cadmium. C'est une substance classée «dangereuse prioritaire» par la Directive Européenne 2000/60/CE.

***Le cuivre (Cu)** : est assez fréquemment retrouvé dans la nature, par exemple sous forme de Chalcopyrite. Ses caractéristiques chimiques n'autorisent cependant pas l'existence de fortes concentrations dans les eaux naturelles. Elles sont donc plutôt d'origine anthropique. Le cuivre est utilisé dans les domaines de l'électricité, de la métallurgie.

Les sels de cuivre sont utilisés dans l'industrie de la photographie, les tanneries (fabrication de pigments), l'industrie textile, les traitements de surface (circuits imprimés, galvanoplastie, dépôts chimiques...) et les fongicides... Il est également utilisé en agriculture, en particulier dans l'alimentation des porcs. Le cuivre métallique est insoluble dans l'eau, mais la plupart de ses sels sont solubles : chlorures, nitrates, et sulfates de cuivre. Les carbonates, hydroxydes et sulfures de cuivre sont quant à eux insolubles.

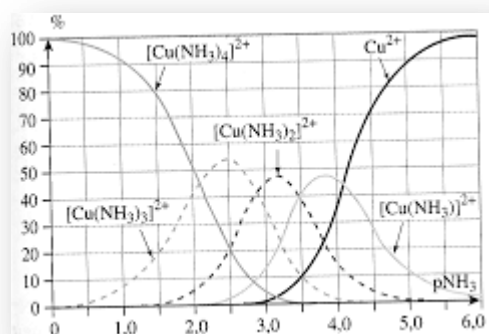


Figure 12: Diagrammes de distribution des complexes de l'ammoniac avec l'ion Cu^{2+}

***Le chrome (Cr) :** est présent naturellement dans les roches magmatiques et dans les sédiments calcaires et argileux. Dans les eaux naturelles, il peut provenir essentiellement de filons métallifères (chromite). Cependant, la présence de chrome dans les eaux naturelles est assez rare, du fait de sa faible solubilité. Sa présence dans les eaux est en général due aux rejets d'eaux usées. A l'état pur, le chrome n'est utilisé que pour la fabrication d'aciers spéciaux, et pour le traitement de surface (dépôts anticorrosion dans l'industrie automobile, et chromage). Ses sels sont utilisés comme pigments pour l'industrie textile, la céramique, la verrerie et la photographie. Les dérivés du chrome se retrouvent dans l'eau essentiellement sous forme oxydée : le chrome trivalent (Cr III) et le chrome hexavalent (Cr VI).

La classification CEE (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie ces deux dérivés du chrome comme «très toxiques pour les organismes aquatiques, et pouvant entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique».

***Le mercure (Hg)** : est un métal lourd que l'on retrouve dans la croûte terrestre. Il est plus fréquent dans les zones volcaniques. Du fait de sa grande volatilité, le mercure peut être largement répandu dans la nature sous forme de traces. Il se concentre souvent sur les particules en suspension dans l'eau ou la matière organique ; on peut le retrouver, de ce fait, dans les sédiments des rivières. Par contre, la présence de mercure dans les eaux souterraines est essentiellement d'origine anthropique, liée à son utilisation dans l'industrie électrique (piles, tubes fluorescents...), et dans l'industrie chimique du chlore. Sa présence dans le milieu est liée également à la combustion des combustibles fossiles et à l'élimination des déchets contenant du mercure : thermomètres, piles, peintures... , ainsi qu'à sa présence dans les amalgames dentaires. Dans les sédiments, le mercure est transformé par des bactéries en méthylmercure. C'est sous cette forme, très soluble dans les lipides qu'il s'accumule fortement dans les graisses animales et augmente au fur et à mesure que l'on s'élève dans la pyramide trophique.

C'est une substance classée dangereuse prioritaire par la Directive Européenne 2000/60/CE. De plus, la classification CEE (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie le mercure comme «très toxique pour les organismes aquatiques, et pouvant entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique».

***Le nickel (Ni)** : la source principale de nickel dans les eaux naturelles est l'oxydation de la pyrite contenant du nickel substitué au fer.

La teneur en nickel est contrôlée par le pH et le potentiel d'oxydo-réduction. La pollution des eaux par le nickel peut également être liée aux rejets des eaux industrielles : Il est employé dans la préparation des alliages, la production d'aciers inoxydables, les dépôts chimiques et électrolytiques. Il sert également de catalyseur en chimie organique. **C'est une substance classée prioritaire par la Directive Européenne 2000/60/CE.**

***Le plomb (Pb)** : peut être présent naturellement. Cependant, des eaux naturelles avec présence de plomb sont assez rares. Les principales sources d'émission du plomb sont les industries du plomb et surtout le trafic routier : Il est utilisé dans l'imprimerie, la métallurgie (fonderie), dans l'industrie des batteries, dans les dépôts d'étain-plomb (connectique), soudures dans l'industrie électronique.

Par ailleurs, la présence de plomb dans l'eau distribuée pour la consommation humaine peut provenir de tuyauteries anciennes contenant du plomb. La source anthropique principale était, jusqu'à ces dernières années, sa présence dans les carburants automobiles.

La classification CEE (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie le plomb comme une substance «présentant des dangers d'effetcumulatif et présentant des risques possibles d'altérations de la fertilité». C'est de plus, une substance classée «prioritaire actuellement en examen» par la Directive Européenne 2000/60/CE.

***Le zinc (Zn):** est un métal relativement courant, présent dans les filons métallifères, essentiellement sous forme de blende. On le trouve également dans le charbon, les bitumes et le pétrole. Il est couramment présent dans les zones minières. Il peut également avoir une origine anthropique. Le zinc et ses composés ont de très nombreuses applications industrielles : revêtement de métaux (galvanisation...), préparation d'alliages, imprimerie et teinture.

Les sels de zinc sont eux utilisés dans la fabrication de pigments pour peinture, émaux, matières plastiques, caoutchouc, la préparation de produits pharmaceutiques et d'insecticides. Sa présence dans le milieu provient également de l'usure des pneumatiques sur les chaussées, et de l'usure des chenaux (zinguerie) des bâtiments.

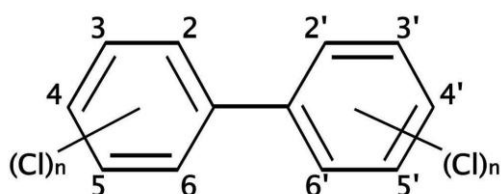
B-Les micropolluants organiques

Ce sont en grande majorité des produits de synthèse issus de l'activité anthropique. Ce paragraphe n'a pas pour vocation d'être exhaustif, mais de donner quelques repères sur les grandes familles de toxiques et leurs caractéristiques.

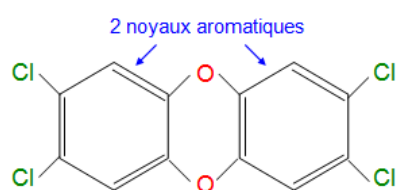
***PCB : polychlorobiphényles :** Ce sont des substances chlorées très stables (résistantes au feu et non biodégradables). Ils étaient utilisés dans les transformateurs électriques comme isolants (les anciennes installations encore en fonctionnement en contiennent donc toujours). Ils entraient également dans la composition de vernis, encres, peintures solvants... Leur combustion peut générer des **dioxines** et **furanes**, substances cancérigènes et mutagènes. Ils ont une très faible solubilité dans l'eau, et une forte affinité pour les matières en suspension et les lipides.

Ils s'accroissent donc dans le milieu naturel et se bioaccumulent fortement dans la chaîne alimentaire (par exemple dans la graisse des poissons).

Du fait de leur importante persistance dans le milieu et de leur forte aptitude à la bioaccumulation, ils font l'objet de restrictions d'usage importantes. De plus, la mise sur le marché des appareils contenant des PCB est interdite.

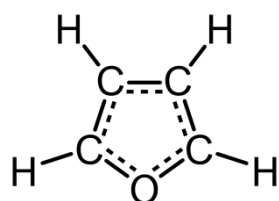


← Structure générale d'un PCB



La molécule de dioxine

← La molécule de dioxine



← La molécule de furane

***HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques :** Les HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) sont quotidiennement présents dans notre proche environnement. En raison de leur pression de vapeur saturante comprise entre 10 et 10^{-10} pascals, de nombreux HAP présents dans l'atmosphère existent simultanément sous forme gazeuse et particulaire (HAP adsorbés et/ou absorbés aux particules). Leur impact sanitaire et leur comportement dans l'environnement, diffère selon la forme considérée.

Ce sont des composés organiques dont la structure cyclique comprend au moins deux cycles aromatiques. Le nombre théorique de HAP susceptibles d'exister s'élève à plus de 1000. Seulement plus d'une centaine de HAP différents y ont été identifiés. Parmi ces HAP, 16 d'entre-eux sont couramment analysés dans les différentes composantes de l'environnement, selon les recommandations de l'Agence Américaine de l'Environnement (US EPA).

Les HAP proviennent essentiellement de phénomènes de pyrolyse-pyrosynthèse de la matière organique (combustibles fossiles, bois ...), ainsi que d'imbrûlés.

Le phénomène d'émissions des HAP provenant d'imbrulés de la matière organique est prévisible, étant données les quantités de HAP déjà présentes dans les différents combustibles. Les mécanismes conduisant à la formation de HAP par pyrolyse-pyrosynthèse ne sont pas encore totalement connus. Ils semblent toutefois impliquer la fragmentation des substances organiques en composés instables, sous l'effet de la température. Ces fragments, principalement des radicaux libres très réactifs, ont des temps de vie très courts. Une partie d'entre eux vont réagir avec l'oxygène présent pour former du CO₂ et de l'eau. Mais l'oxygène étant généralement insuffisant pour accomplir une oxydation totale, une partie de ces fragments vont réagir entre eux. La recombinaison de ces fragments va conduire lors du refroidissement à des composés organiques de plus en plus complexes.

Ces mécanismes autorisent la formation d'une grande variété de HAP de masse molaire comprise entre 78 (C₆H₆) et 1792 g.mol⁻¹ (C₁₄₄H₆₄). Généralement, la nature et l'abondance des HAP formés va dépendre de paramètres tels que la composition du combustible de base (le rendement de formation des HAP augmente avec la concentration d'aromatiques, d'alcènes cycliques, d'alcènes, et d'alcanes), de la proportion d'oxygène et de la température de combustion (plus la température est élevée, moins des HAP alkylés seront formés).

Un autre mode de formation des HAP provient de la formation géologique des combustibles fossiles tels que le pétrole ou le charbon lors de la dégradation des substances organiques, à pression élevée et à température réduite (inférieure à 200 °C). En raison de la température relativement basse, les HAP sont formés plus lentement et la proportion de HAP alkylés augmente.

Dans notre environnement, il apparaît que les sources de HAP sont principalement anthropiques bien qu'épisodiquement, des processus de combustion naturelle (feux de forêt, volcans) puissent être à l'origine d'une grande production de HAP.






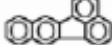
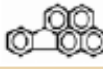


Deux types de HAP sont distingués :

- **les pétrogéniques** : se dit des hydrocarbures présents dans les bruts pétroliers, d'origine naturelle qui se caractérisent par une forte proportion d'hydrocarbures ramifiés.
- **les pyrogéniques** : se dit des hydrocarbures produits par combustion de matière organique (riche en carbone, combustibles fossiles ou bois). Ces hydrocarbures dont l'origine est liée à l'activité humaine, sont considérés comme des polluants primaires.

Ce sont les HAP qui prédominent dans l'environnement. Ce sont principalement les composés non-ramifiés.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) propose de suivre principalement six HAP. Ceux-ci figurent dans le tableau suivant.

Tableau 3 : Liste des HAP considérés par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2003)

substance	abréviation	N° CAS	Code SANDRE	molécule	Origine majoritaire
Acénaphthène	ACE	83-32-9	1453		pétrogénique
Anthracène	ANT	120-12-7	1458		pétrogénique
Benzo(a)pyrène	BaP	50-32-8	1115		pyrolytique
Benzo(b)fluoranthène	BbF	205-99-2	1116		pyrolytique
Benzo(g,h,i)pérylène	BghiP	191-24-2	1118		pyrolytique
Benzo(k)fluoranthène	BkF	207-08-9	1117		pyrolytique
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	IcdP	193-39-5	1204		pyrolytique
Fluoranthène	FLU	206-44-0	1191		mixte
Naphtalène	NAPH	91-20-3	1517		pétrogénique

-Persistance dans l'environnement : ils sont généralement peu dégradés dans l'environnement naturel ou par les organismes vivants

-Bioaccumulation : ces molécules s'accumulent dans les tissus vivants du fait de leur faible solubilité aqueuse et leur forte solubilité dans les lipides. De façon générale, lorsque la masse moléculaire de ces composés augmente, leur solubilité dans l'eau diminue alors que leur caractère lipophile augmente.

-Transport longue distance : du fait de leurs propriétés de persistance et de bioaccumulation, ces composés semi-volatils peuvent se déplacer sur de longues distances et se déplacer loin des lieux d'émission, typiquement des milieux chauds (à forte activité humaine) vers les milieux froids.

-Propriétés cancérogènes et mutagènes :

La toxicité des HAP peut être aiguë, faible ou modérée selon le composé considéré.

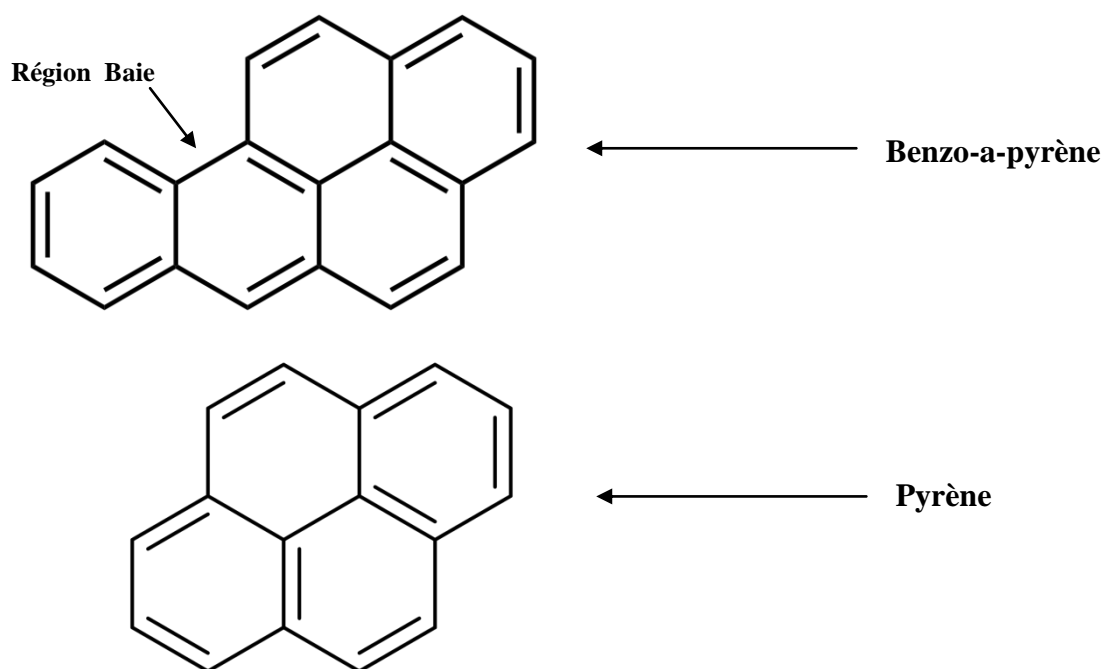
Aux vues des concentrations auxquelles sont exposées les populations, les risques toxiques associés aux HAP sont généralement liés à une exposition chronique. Les risques les plus importants liés aux HAP sont leur effet mutagène et cancérigène. En effet, certains d'entre eux ont été classés comme cancérogènes probables ou possibles chez l'humain par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), l'US EPA et l'Union européenne. Plusieurs mélanges de HAP en atmosphère de travail ont été également classés comme cancérogènes pour l'homme. Parmi les HAP, la toxicité du benzo(a)pyrène est la mieux documentée et la plus mesurée. Celui-ci a été classé comme cancérogène probable pour l'homme par le CIRC (groupe 2A), sa capacité à induire un cancer du poumon étant reconnue.

-Métabolisme :

Les HAP présentent un caractère lipophile qui leur permet d'être transférés au sein des réserves lipidiques des organismes et dans les membranes cellulaires (essentiellement constituées de phospholipides). La présence de telles molécules entraîne rapidement la réaction des systèmes biochimiques de détoxification dont le rôle est de rendre hydrosolubles ces composés dangereux, afin de faciliter leur excrétion par voie rénale, biliaire ou branchiale.

Dans l'organisme, certains tissus cellulaires, en particulier les tissus pulmonaires, hépatiques et cutanés, contiennent donc des enzymes chargées de catalyser une série de réactions permettant de détoxifier les composés nocifs présents.

En ce qui concerne les HAP cancérigènes, les réactions de détoxification est catalysée par le CYP1A1, qui appartient à une famille d'enzymes appelées cytochromes P450. Le benzo(a)pyrène se liait préférentiellement au gène suppresseur humain p53 dans les cellules épithéliales bronchiques. Ce gène suppresseur est alors muté et s'exprime anormalement. Il perd alors son rôle protecteur contre la prolifération de cellules malignes. Il est important de noter que les propriétés cancérigènes des HAP dépendent essentiellement de la structure du composé considéré. Plusieurs facteurs favorisent le caractère cancérigène : le nombre de cycles (ce sont les HAP à 4 noyaux aromatiques ou plus qui sont généralement cancérigènes), l'arrangement stérique de la molécule (les molécules planes sont moins toxiques). De plus, pour être cancérigène, le HAP doit posséder une région «**baie**» et être dissymétrique.



Cette configuration gouverne les modalités d'oxydation de la molécule en raison des zones à forte densité électronique.

***Solvants chlorés :** Les solvants chlorés sont des **dérivés chlorés des hydrocarbures aliphatiques**, soit des dérivés saturés ou des dérivés insaturés. Ils sont utilisés dans différents domaines: agricole, industriel, médical et domestique. Les solvants chlorés ont été utilisés dès 1920 pour leurs propriétés décapantes. Ils ont connu un développement spectaculaire dans le domaine du dégraissage grâce à leur ininflammabilité. La consommation des solvants chlorés est en nette diminution depuis les années soixante-dix suite à de nouvelles réglementations visant à préserver l'environnement et la santé (directive de 2004/42/CE). Ses composés font partie des COV (composés organiques volatils) et sont impliqués dans la destruction de la couche d'ozone stratosphérique et contribueraient également à l'effet serre. Les eaux souterraines contaminées aux solvants chlorés posent de sérieux problème à la santé humaine et à l'environnement, puisque leurs intermédiaires de dégradation sont souvent très toxiques, voir cancérigène.

-Les dérivés saturés

Dérivés du méthane CH₄:

- ✓ Monochlorométhane = Chlorure de méthyle (CH₃Cl)
- ✓ Dichlorométhane = Chlorure de méthylène (CH₂Cl₂)
- ✓ Trichlorométhane = Chloroforme (CHCl₃)
- ✓ Tétrachlorométhane = Tétrachlorure de carbone (CCl₄)

Dérivés de l'éthane C₂H₆:

- ✓ Monochloroéthane
- ✓ Dichloroéthane (ex. 1,2 dichloroethane ou chlorure d'éthylène pour fabrication de chlorure de vinyle)
- ✓ Trichloroéthane (ex. Trichloro 1-1-1 éthane)
- ✓ Tétrachloroéthane (C₂H₂Cl₄)

-Les dérivés insaturés

Dérivés de l'éthylène C₂H₄:

- ✓ Monochloroéthylène ou chlorure de vinyle
- ✓ Dichloroéthylène (Diéline)
- ✓ Trichloroéthylène (Cl₂=CHCl)
- ✓ Tétrachloroéthylène = Perchloréthylène (Cl₂C=CCl₂)

Autres : 1,3 Dichloropropène, 3 Chloropropylène = chlorure d'allyle (monomère pour la synthèse des résines époxy), Perchlorobutadiène

-Utilisations

En tant que solvant : Dégraissage des métaux, Nettoyage à sec, Extraction des principes actifs en pharmacie...

En tant que diluant dans les: Colles, Adhésifs, Peintures ...

Autres : Décapant (élimination des peintures, vernis...), Purifiant (parfum, médicaments), Milieu de synthèse en chimie fine, Intermédiaire de synthèse pour la fabrication d'insecticides et de matières plastiques, Anesthésique (chloroforme), Retardeurs de flamme, Fluides frigorigènes, Fluides propulseurs des générateurs d'aérosols ...

Exposition aux solvants chlorés dans différents domaines

- Dégraissage des métaux à froid (trichloroéthylène, dichlorométhane, trichlorométhane, tétrachlorométhane)
- Chantiers navals
- Industrie automobile
- Pulvérisation de peintures (chlorure de méthylène, trichloréthane, tétrachlorure de carbone)
- Imprimerie, typographie
- Fabrication de gaz réfrigérants (trichlorométhane, monochloroéthane)
- Extraction de café et parfum (dichloroéthylène)
- Dégraissage des fibres textiles (trichlo, tétrachloroéthylène, actuellement fréquemment remplacé par du 1.1.1. trichloroéthane)
- Industrie des pesticides
- Fabrication de plastiques (chlorure de vinyle et de méthyle)
- Fabrication de peintures et de colles (trichloréthylène, trichloréthane)
- Fabrication des cosmétiques

Caractéristiques communes des solvants

Caractéristiques physiques et chimiques: Liquide incolore, Ininflammable, Très stable, Volatile, Quasi inerte, Insoluble dans l'eau.

Dégradation thermique: A la chaleur, par dégradation thermique, ces composés forment le Phosgène (= Oxychlorure de carbone) qui est très toxique, mais également le chlore et le gaz chlorhydrique. La formation du phosgène est importante pour le tétrachlorure de carbone, le tétrachloroéthane et le trichloréthylène.

Toxicité des solvants chlorés

La voie de pénétration dans l'organisme est principalement la voie respiratoire, à un moindre degré la voie cutanée et accidentellement la voie digestive. Ils sont alors soit éliminés sous forme inchangée dans l'air expiré, soit fixés dans les tissus ou métabolisés par le foie puis éliminés dans les selles, les urines ou l'air expiré. Les solvants ont une affinité pour les organes riches en graisse.

a-Toxicité aiguë

Système nerveux central : Manifestations ébrio-narcotiques (sensation d'ivresse, vertiges, céphalées), En cas d'exposition massive : anesthésie, somnolence, coma.
Sulfure de carbone : « folie sulfocarbonée » avec hallucinations visuels et auditifs. Syndrome d'intolérance aux odeurs chimiques

Peau et muqueuses : Projection oculaire (conjonctivite irritative jusqu'à l'œdème de cornée), Projection cutanée (irritation, voir brûlure chimique), En cas d'une contamination cutanée étendue et prolongée : intoxication systémique possible.

Voies respiratoires : L'irritation des voies aériennes (bouche, nez, pharynx, larynx) est l'effet le plus souvent rencontré, Toux, douleurs thoraciques immédiats ou retardés, voir OAP lésionnel.

Cœur et vaisseaux : Perturbation du rythme cardiaque, Angor lié au dichlorométhane qui est partiellement métabolisé en CO.

Foie et reins : atteintes rares suite à une exposition massive (ex. DMF : cytolyse hépatique)

b-Exposition chronique

En général l'atteinte est souvent irréversible. Les effets peuvent durer très longtemps. La récupération des facultés, quand elle est possible, est lente.

Atteinte cutanée et muqueuse : Dermatite irritative (peau sèche, rêche et crevassée), Eczéma de contact/aéroporté (rare), Urticaire de contact (rare)

Psychosyndrome organique (POS) : Fatigue et asthénie, Baisse de la libido, Troubles du sommeil, Difficultés de concentration, Pertes de mémoire, troubles de l'humeur et irritabilité, Tendance dépressive, Altération des fonctions cognitives, Diminution de la dextérité manuelle

Système nerveux périphérique : Polynévrite sensitivo-motrice (n-hexane, méthyl-n-butylcétone), Formes douloureuses : sulfure de carbone (interdit)

Cancérogénicité :

EU/Catégorie 1 : 2-nitropropane

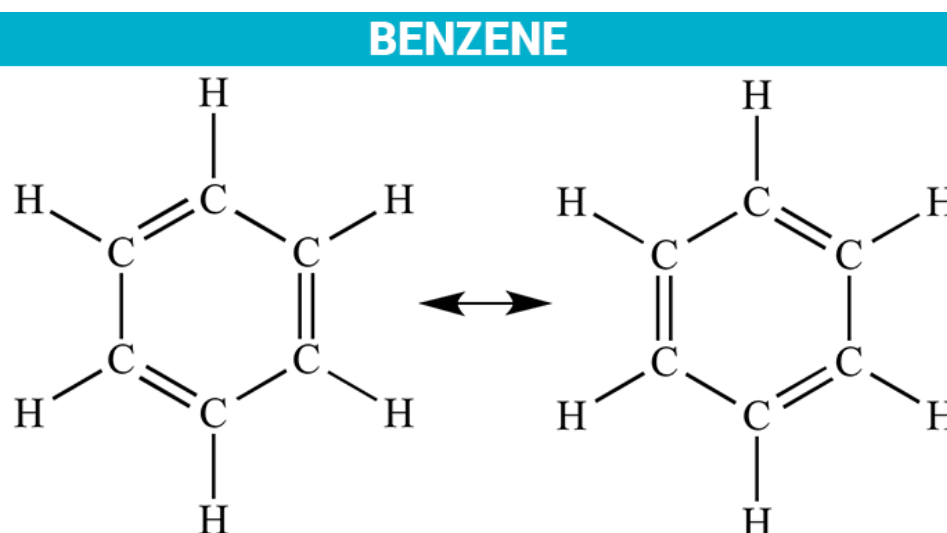
CIRC/ groupe 2A : trichloroéthylène, perchloroéthylène, 1,2,3-Trichloropropane

CIRC/ groupe 2B : la plupart des molécules

***Dérivés du Benzène** : cette famille de composés regroupe des molécules très diverses utilisées presque exclusivement dans l'industrie comme solvant d'extraction (en particulier dans l'industrie des parfums) et intermédiaires de fabrication.

Le benzène est un composé toxique qui est classé comme substance prioritaire par la Directive Européenne 2000/60/CE.

Quelques exemples de dérivés du benzène : toluène (solvant pour peintures, vernis, colles, encres - nocif), xylènes (solvants pour peintures, vernis, colles, encres, utilisés pour préparation d'insecticides, de colorants et de produits pharmaceutiques - nocifs), chlorobenzènes (1-2, 1-3 et 1-4 dichlorobenzène : fabrication d'insecticides anti-mites), pentachlorobenzène (substance classée dangereuse prioritaire par la Directive Européenne 2000/60/CE), nitro-benzènes...



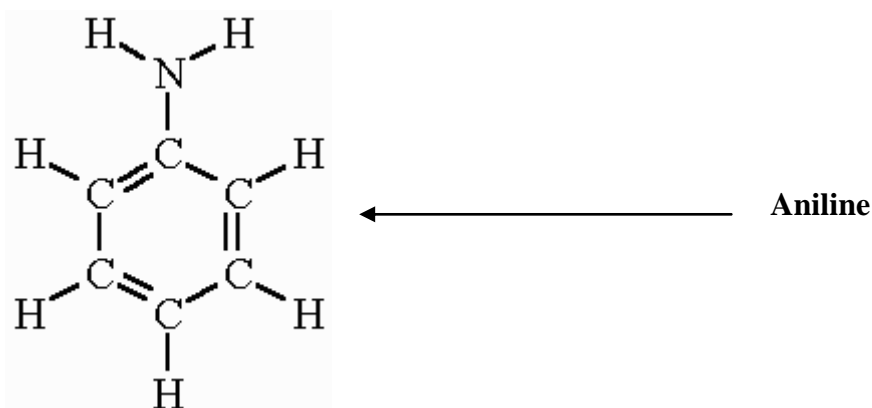
***Phénols et dérivés** : les phénols sont utilisés dans l'industrie des matières plastiques, des fibres synthétiques, dans l'industrie pharmaceutique. Ils servent également pour la fabrication de détergents, de colorants, de pesticides (notamment les chlorophénols).

Quelques exemples de molécules : chlorophénols (substances toxiques pour les organismes aquatiques), dichlorophénols (2,4 dichlorophénol : toxique pour les organismes aquatiques), méthylphénols, nonylphénols sont classés substances dangereuses prioritaires par la directive européenne 2000/60/CE.

***Aniline et dérivés** : l'aniline est utilisée en synthèse organique pour la fabrication industrielle de nombreux produits, dans l'industrie des polymères, du caoutchouc, des matières colorantes, ainsi que des pesticides et des produits pharmaceutiques.

La classification CEE (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie l'aniline comme «très toxique pour les organismes aquatiques, et dangereuse pour l'environnement».

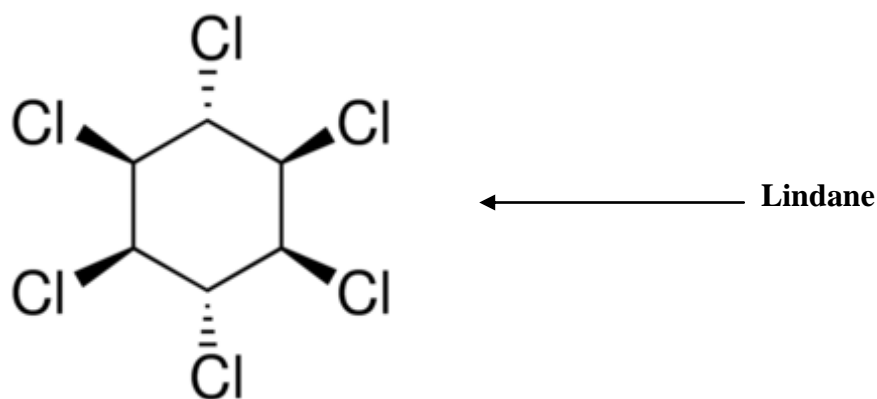
Quelques exemples de molécules : chloroanilines, dichloroanilines, trichloroanilines...



***Pesticides** : appelés également «phytosanitaires» Les pesticides sont des substances chimiques minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures, les animaux nuisibles et les vecteurs d'affections parasitaires ou microbiologiques de l'homme et des animaux domestiques. On distingue notamment des insecticides utilisés contre les insectes nuisibles, des fongicides utilisés contre les champignons phytopathogènes, des herbicides qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable. Les substances chimiques sont très diverses comme des composés minéraux (soufre, sulfate de cuivre), des molécules organiques de synthèse (carbamates, urées substituées, triazines, organophosphorés,...) mais aussi des molécules organiques naturelles (nicotine, pyréthrine). On dénombre 8.800 spécialités commerciales dans la composition desquelles entrent plus de 900 matières actives.

Citons quelques exemples de pesticides fréquemment retrouvés : Atrazine, Simazine, Diuron, lindane....

D'une manière générale, les pesticides contaminent fréquemment les milieux aquatiques (rivières ou eaux souterraines) sont soumis à des restrictions d'usage afin de limiter leur impact, notamment sur la santé humaine via la consommation d'eau potable. C'est par exemple le cas de l'atrazine et de la simazine dont l'usage non agricole a été interdit et la dose éendue à l'hectare a été limitée pour les usages agricoles. Compte tenu de la persistance de la contamination dans les eaux, ces deux triazines ont finalement été interdites.



I.3.Evaluation de la toxicité d'un polluant : tests de toxicité

On connaît les propriétés physico-chimiques des différents micropolluants : volatilité, hydrosolubilité, dégradation.... La question qui se pose maintenant est: comment mesure-t-on les effets des micropolluants sur les organismes vivants ... quel est l'impact de leur présence dans l'environnement à des concentrations excessives...

I.3.1. Que sont les bioessais ??

De nombreuses espèces tant animales que végétales, de nombreux critères d'effets (mortalité, inhibition de croissance, immobilisation, ...) ont été étudiés par la communauté scientifique. Ces travaux ont conduit à la définition de divers bioessais de laboratoire dont un certain nombre sont maintenant normalisés. L'objectif d'un bioessai est de déterminer, dans des conditions expérimentales précises, la concentration de toxique ou la durée d'exposition nécessaire pour entraîner un effet déterminé.

Ils ont donc pour but la détection et l'évaluation de l'écotoxicité potentielle d'une substance chimique ou de tout autre échantillon vis-à-vis des organismes vivants. Les essais normalisés tant au niveau national qu'international (AFNOR, ISO, UE, OCDE) présentent en commun un certain nombre de caractéristiques : leur reconnaissance par la communauté scientifique, leur capacité à prédire les effets d'une grande variété de substances sur des organismes différents, leur reproductibilité inter laboratoire, leur sensibilité et enfin leur facilité de réalisation et leur coût modéré. Leur réalisme « écologique » est quant à lui beaucoup plus discuté, ces bioessais étant réalisés dans des conditions d'environnement conventionnelles (température constante, photopériode contrôlée, milieu artificiel, ...) souvent fort éloignées des conditions environnementales naturelles. Compte tenu de la grande diversité des espèces animales et végétales dans les écosystèmes aquatiques et terrestres, les essais d'écotoxicité ont été développés vis-à-vis d'organismes représentant différents niveaux trophiques : producteurs primaires (assurant leur développement à partir du gaz carbonique, de l'eau et des sels minéraux et utilisant la lumière comme source d'énergie), consommateurs primaires (herbivores), secondaires (carnivores) et décomposeurs (utilisant la matière organique morte dont ils assurent une minéralisation progressive).

1.3.2. Le rôle des bioessais dans la réglementation des substances chimiques

Les bioessais sont des tests de référence à la fois dans le cadre de l'évaluation des substances avant leur mise sur le marché (ex : règlement REACH²) et dans le cadre de la surveillance de leur devenir dans l'environnement, une fois ces substances utilisées (ex : Directive Cadre sur l'Eau³). L'impact sur l'environnement fait partie de l'évaluation des risques que les règlements exigent des producteurs et importateurs de substances chimiques de veiller à fabriquer, mettre sur le marché, ou utiliser des substances qui n'ont pas d'effets nocifs pour la santé humaine ou l'environnement. L'évaluation préconisée dans le règlement s'appuie sur le rapport PEC/PNEC et nécessite donc de procéder à des bioessais.

Les bioessais sont également utilisés pour obtenir un bon potentiel écologique et un bon état chimique des eaux de surface et de réduire progressivement la pollution due aux substances prioritaires et d'arrêter ou de supprimer progressivement les émissions, les rejets et les pertes de substances dangereuses prioritaires.

Le bon état chimique d'une masse d'eau est estimé par rapport au respect des Normes de Qualité Environnementales, qui se fondent sur les valeurs obtenues grâce aux bioessais (CE50, LOEC et NOEC). Le recours aux bioessais présente un grand nombre d'avantages : ce type d'essais est capable de prédire les effets d'une grande variété de substances sur des organismes différents.

Ils ont obtenu une reconnaissance de la communauté scientifique, et pour certains sont standardisés, voire normalisés au niveau international (AFNOR, ISO, OCDE...). Leurs résultats sont en effet répétables, ces tests sont reproductibles d'un laboratoire à l'autre et présentent un bon niveau de sensibilité pour détecter les effets.

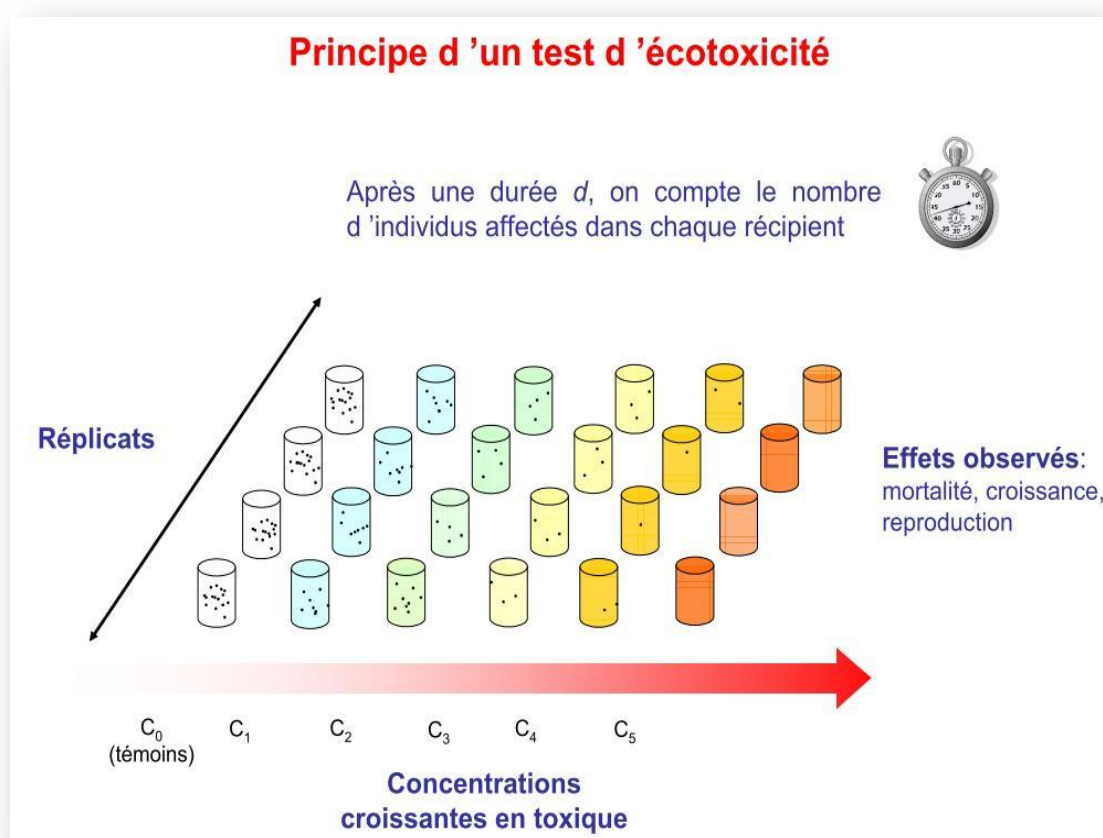


Figure 13 : *Principe d'un test d'écotoxicité*

I.3.3. Types de Tests

***Toxicité Aiguë :** La toxicité aiguë est définie comme la résultante de l'exposition unique et massive (ou de doses ramassées dans le temps) à un produit chimique entraînant des dommages corporels pouvant conduire à la mort.

Elle introduit la notion de dose « absorbée » (par ingestion, inhalation ou contact cutané) et se mesure par la DL 50/DE 50 (dose létale/ effective ou D/C provoquant la mort de 50% des animaux exposés à une exposition unique du produit incriminé), exprimée en mg/kg de l'animal d'expérience retenu, par exemple le rat par voie orale. C'est ce critère de DL50 qui permet aujourd'hui de procéder au classement des substances chimiques en vue de leur étiquetage réglementaire toxique, corrosif, nocif ou irritant.

La notion de DL50 est remplacée par celle de CL50 (concentration létale) lorsque la contamination se fait par voie directe.

Plus la DL50 (ou la CL50) est basse, autrement dit plus le produit testé produit des effets néfastes à faible dose, plus sa toxicité est grande. La toxicité aiguë est extrêmement variable d'un produit à l'autre.



Exemples de Tests de toxicité Aigue

***Test Microtox® de bioluminescence bactérienne**

Système biologique exposé : Bactérie luminescente marine (*Vibrio fischeri*)

Effets ou modes d'action mis en évidence : Inhibition de la bioluminescence (toxicité non spécifique)

Principe : Le test est basé sur l'inhibition de la luciférase, une enzyme qui catalyse l'oxydation de la luciférine qui s'accompagne d'une émission de lumière. Un résultat positif indique la présence de substances agissant sur le métabolisme énergétique des cellules. Les effets des substances ou échantillons testés sur la bioluminescence bactérienne sont mesurés au bout de 30 minutes d'exposition.

Durée

Environ une demi-journée (durée d'exposition: 30 min)

Intérêt

Bon screening pour évaluer la toxicité d'échantillons de composition inconnue
Test fréquemment utilisé pour l'étude des eaux usées et effluents d'épuration, imposé dans certains pays ex: Allemagne

Norme: Norme ISO: International Organization for Standardization (2007)



***Inhibition de la mobilité:**

Organisme de test : Grande daphnie (*Daphnia magna*)

Principe : Mesure des effets des substances ou échantillons à tester sur la mobilité de daphnies après 24 ou 48 h d'exposition.

Paramètre étudié : Inhibition de la mobilité (= mortalité)

Durée : 24 ou 48 h

Intérêt : Organismes zooplanctoniques des eaux stagnantes se nourrissant d'algues, les daphnies constituent l'élément de base de l'alimentation des poissons. Modèle biologique standard pour l'étude de l'écotoxicité aiguë des substances chimiques et échantillons d'eau

Normes et références : OCDE (2004).

***Toxicité Chronique** : La toxicité chronique est le résultat de l'exposition prolongée à plus ou moins faible dose à un xénobiotique toxique dont les effets néfastes ne se feront sentir que quelques mois à quelques années voire dizaines d'années plus tard (selon le cycle de vie de l'animal cette durée peut être même quelques jours ou quelques heures!!)

Les effets peuvent apparaître durant l'exposition ou bien après la cessation de celle-ci. Elles peuvent être le résultat d'une exposition conjuguée à plusieurs toxiques. On peut citer comme exemples d'agents connus pour leur toxicité chronique l'amiante, le plomb, le benzène, la silice, le mercure, les solvants chlorés, certains éthers de glycol...Mais il en existe de très nombreux autres.

A la différence de la toxicité aiguë, la toxicité chronique ne se propose pas de déterminer un seuil de mortalité mais plutôt la dose quotidienne administrée en dessous de laquelle n'apparaissent pas d'effets sur la santé (NOEC).

Cette notion de seuil doit permettre d'élaborer des valeurs limites d'exposition des opérateurs, leur garantissant l'absence de risque lorsque leur travail s'effectue largement en dessous des limites fixées...

Cependant, la toxicité chronique fait entrer en jeu de nombreux facteurs susceptibles de faire varier la réponse de l'organisme en fonction des individus.

On parle de susceptibilité individuelle : l'âge, le sexe, les habitudes alimentaires, le tabagisme, l'alcool, les facteurs génétiques... Ces éléments rendent difficiles la détermination de seuils.



Exemples de Tests de toxicité chronique

***Le test d'Algue**

NF T 90-375 : Détermination de la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*).

Champs d'application : Le test algue est une méthode de détermination de la toxicité chronique applicable aux effluents aqueux industriels et urbains, aux lixiviats ou extraits aqueux ainsi qu'aux eaux douces de surface ou souterraines.

Principe et protocole : Des algues de l'espèce *Pseudokirchneriella subcapitata* issues d'une culture en phase exponentielle de croissance sont placées dans chacune des concentrations de l'échantillon à examiner, en présence de milieu nutritif. Les solutions d'essai ainsi constituées et les solutions témoins, maintenues en agitation, sont placées à température et sous illumination constante, pendant 72h.

Les concentrations cellulaires de chaque récipient sont déterminées toutes les 24h ou seulement à la fin de la période d'essai. Les pourcentages d'inhibition de la croissance sont calculés par rapport aux solutions témoins réalisées dans les mêmes conditions. Un tableau présentant ces pourcentages est établi et permet de tracer une droite correspondante : la courbe d'inhibition. La CE50 est déterminée graphiquement. Il s'agit de la concentration de la solution d'essai correspondante à un pourcentage d'inhibition de 50%.

I.3.4.Représentation graphique des résultats

Une fois que les différents paramètres ont été mesurés et que l'expérience est terminée, il faut structurer les résultats, les mettre en relation les uns avec les autres, les illustrer par des graphiques et réaliser des analyses statistiques.

On peut alors émettre des hypothèses pour expliquer ces résultats et les comparer à la littérature scientifique. Enfin, on conclut sur l'ensemble des résultats et on évoque des perspectives.

Les représentations graphiques peuvent être réalisées à partir des modèles probit et logit.

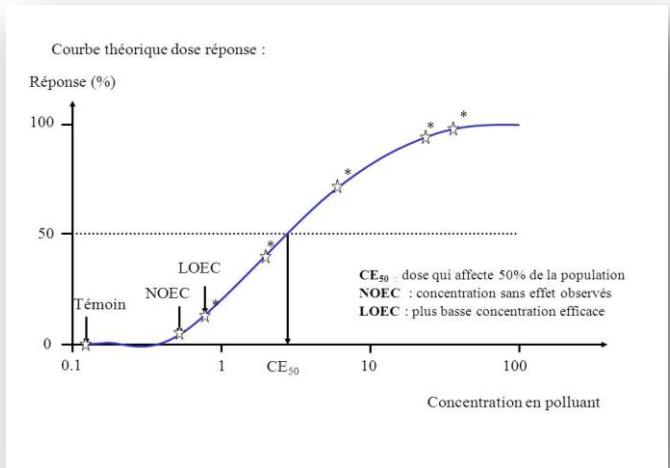
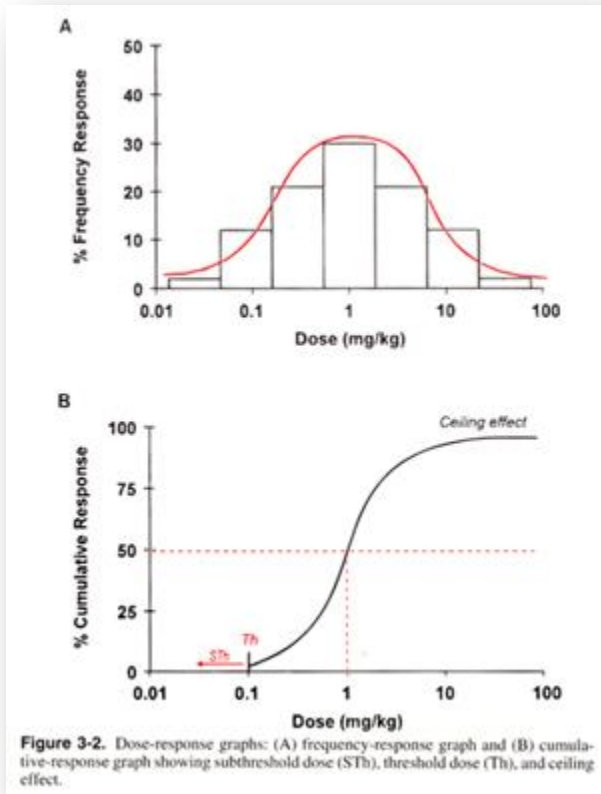


Figure 14 : Différentes représentations graphiques

Le schéma ci-dessous (fig.15) illustre la différence entre toxicité aiguë et chronique. **Le seuil de toxicité aiguë est toujours plus élevé que le seuil de toxicité chronique.** La toxicité aiguë se manifeste après une exposition très courte à une concentration élevée de substance toxique (la notion de concentration élevée est à relativiser, les polluants toxiques sont toxiques à des doses de l'ordre du microgramme par litre. La concentration conduisant à des effets toxiques aigus est forte par rapport à celle conduisant à des effets toxiques chroniques). De ce fait, cette exposition entraîne généralement la mort de l'organisme exposé. La toxicité chronique se manifeste après une exposition longue à une concentration faible de la substance toxique.

La substance peut exprimer sa toxicité de différentes façons. Elle peut se bioaccumuler dans les tissus de l'organisme. Après un temps de latence suffisamment long, la concentration accumulée dépasse le seuil de toxicité chronique et les effets toxiques s'expriment. La substance peut également provoquer à de faibles concentrations de légers symptômes. Lorsque ces symptômes se prolongent dans le temps, ils entraînent un dysfonctionnement de l'organisme beaucoup plus important.

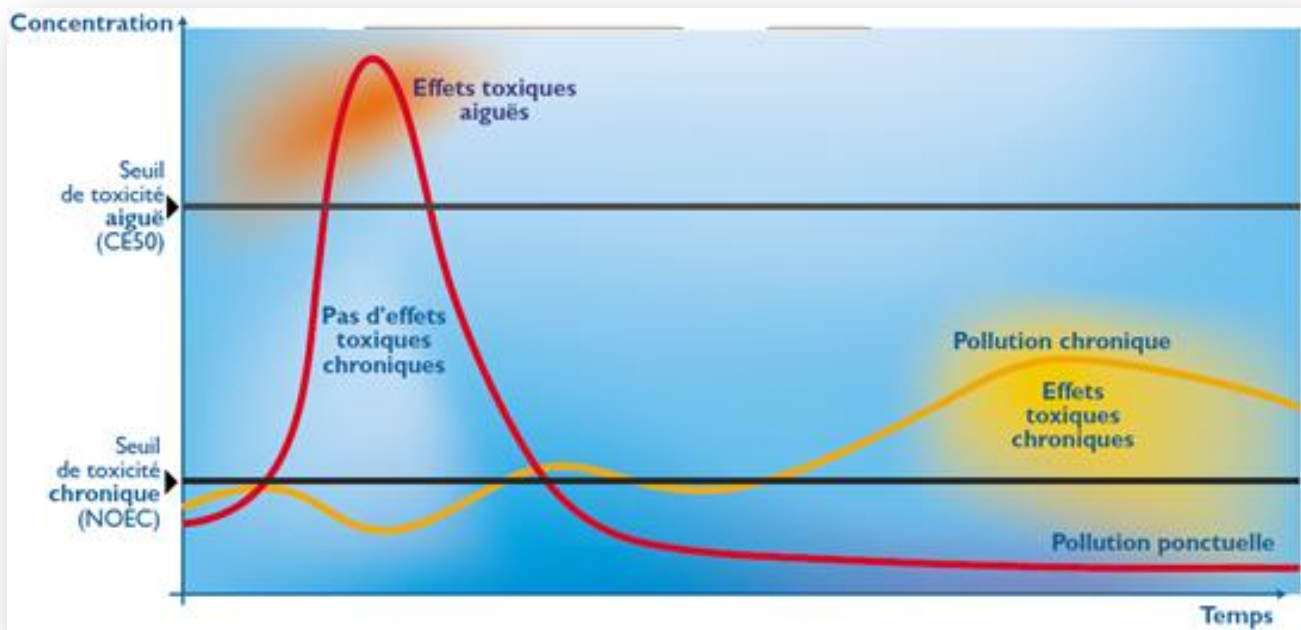


Figure 15 : Différence entre les tests de toxicité aiguë et chronique



Exercice : Test de détermination de CL_{50} sur les vers de terre: *Eisenia fetida*

Un test de détermination de CL_{50} est fait avec un sol contenant 70% de sable, 20% d'argile et 10 % de tourbe et dont le pH a été ajusté à 6,3. Du phénanthrène est ajouté en quatre concentrations C_1 , C_2 , C_3 et C_4 .

Chaque concentration est testée avec 10 vers en 4 réplicas avec un contrôle. Des vers *Eisenia Fetida* sont laissés 10 jours, puis les vers morts sont comptés et la concentration en phénanthrène est déterminée dans chaque vers (mort ou vif).

- Calculez la CL_{50}
- Calculez les facteurs de bioconcentration pour chaque concentration

- Les valeurs de facteurs de bioconcentration calculées sont-elle représentative de la réalité? Expliquez votre réponse.
- Calculez la NOEC
- Nommez 2 limites de ce test.

Tableau 1 résultats des test de CL₅₀

	réplicas	C1 0,5 mg/kg	C2 2 mg/kg	C3 10 mg/kg	C4 25m g/kg
Nb de décès	1	0	2	4	8
	2	0	1	5	7
	3	0	3	6	9
	4	0	1	5	10
	contrôle	0	0	0	0
concentration moyenne de PCP dans les vers mg/kg de vers	1	0,012	0,98	5,1	10,2
	2	0,009	1,1	3,2	11,3
	3	0,02	0,9	4,2	9,2
	4	0,013	0,8	3,9	12,4
	contrôle	0	0	0	0

Solution :

- calcul des moyennes des % de mortalité:
 % mortalité à C2 = moyenne/10 * 100% = (2+1+3+1)/40 * 100% = 20%
 % mortalité à C3 = moyenne/10 * 100% = (4+5+6+5)/40 * 100% = 50%
 % mortalité à C4 = moyenne/10 * 100% = (8+7+9+10)/40 * 100% = 85%

La CL₅₀ est donc à C3 = 10 mg/kg

- $FBC = C_{\text{vers}}/C_{\text{terre}}$

Pour C1

$FBC = \text{moyenne } C_{\text{vers}} \text{ à } C0 / C_{\text{terre}} = 0,0135 / 0,5 = 0,027 \text{ kg de terre/kg de vers}$

Pour C2

$FBC = \text{moyenne } C_{\text{vers}} \text{ à } C0 / C_{\text{terre}} = 0,945 / 2 = 0,4725 \text{ kg de terre/kg de vers}$

Pour C3

FBC = moyenne $C_{\text{vers}} \text{ à } C_0 / C_{\text{terre}} = 4,1/10 = 0,41 \text{ kg de terre/kg de vers}$

Pour C4

FBC = moyenne $C_{\text{vers}} \text{ à } C_0 / C_{\text{terre}} = 10,775/25 = 0,43 \text{ kg de terre/kg de vers}$

- On peut douter qu'en 10 jours, le régime permanent de la cinétique « entrée-excrétion » soit atteint. De plus, le test se fait en 14 jours de façon standard

- **NOEC: 0,5 mg/kg**

- Sol artificiel, il manque certains minéraux pour la survie des vers de terre.
La durée du test est trop courte pour ce genre de données
La NOEC pourrait se situer entre 0,5 mg/kg et 2 mg/kg, il manque de point sur la courbe pour s'en assurer.
- Les vers de terre utilisés sont-ils représentatifs de la faune d'invertébrés de l'écosystème étudié??

Et si on teste la même substance sur plusieurs organismes??

I.3.5. La courbe SSD: species sensitivity distribution

Prédire la toxicité d'une substance/ d'un mélange dans l'environnement pour un assemblage d'espèces à partir de données obtenues en laboratoire par des tests monospécifiques.

Lorsque les valeurs dérivées des courbes concentration-réponse sont disponibles sur un nombre suffisant d'espèces, il est possible de construire des courbes de distribution de sensibilité des espèces (SSD) à un contaminant donné. Ces courbes dérivent de l'ajustement d'un modèle à la distribution cumulée de ces valeurs. La valeur d'intérêt (log CE10 ou log CE50...) est portée en abscisse et la proportion d'espèces affectées en ordonnée. à partir de ces courbes, on peut extrapoler des valeurs appelées « seuils de danger » ou Hazardous Concentrations (HC) qui permettent de protéger par exemple 95 % des espèces d'une communauté et de n'en affecter que 5 % (HC5).

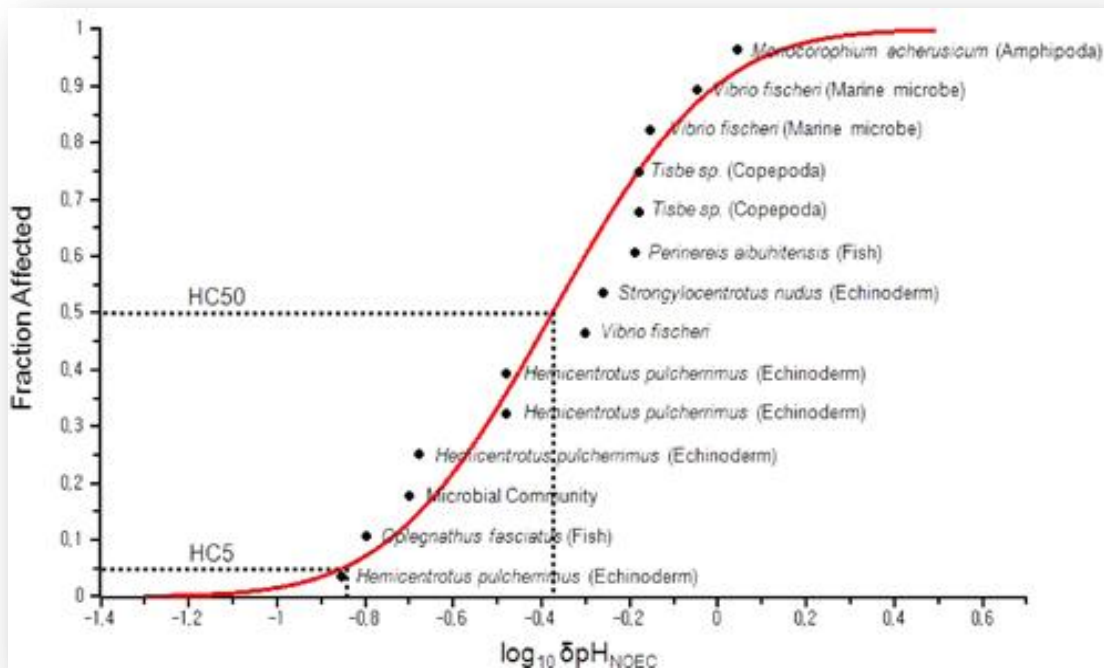


Figure 16 : Exemple de représentations SSD

I.3.6. Bioessais in vitro... avantages/inconvénients :

- Conditions expérimentales conventionnelles
- Nombre limité d'espèces
- Peu de critères d'effets (CL50, NOEC...)
- Faible représentativité

Mais.....

- Facilement standardisable
- Forte reproductibilité
- Facilité de mise en œuvre
- « Faible » coût

I.3.7. Les mésocosmes :

Écosystèmes artificiels placés dans des conditions environnementales naturelles \neq microcosmes: Reproduction à l'échelle du laboratoire d'un écosystème simplifié possédant un nombre réduit d'espèces caractéristiques des principaux niveaux trophiques.



Odum (1984) fut le premier à utiliser le terme mesocosme. Il le proposa pour définir les études qui se situaient, au niveau de la taille, entre les études de laboratoire (microcosmes) et celles de terrain (macrocosmes).

Les mesocosmes sont définis comme *des écosystèmes artificiels places dans des conditions environnementales naturelles*.

En 1991, la SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) a défini les mesocosmes comme des installations dont le volume, dans le cas d'un Système lentique, est supérieur à 15 m³, ou la longueur, dans le cas d'un Système lotique, supérieure à 15 m. L'utilisation de systèmes expérimentaux de type mesocosmes, peut permettre de mettre en place des scénarios beaucoup plus réalistes du point de vue écologique que les systèmes de laboratoire, tout en permettant de mieux connaître, voire de minimiser, les variations de nombreux paramètres, ce qui facilite l'interprétation de l'éventuelle réponse de certains d'entre eux suite à l'introduction de polluants. Ces systèmes peuvent permettre d'évaluer l'impact des perturbations causées par les échantillons testés à la fois sur des paramètres structuraux et sur des paramètres fonctionnels des écosystèmes.

Tableau 4 : *Avantages et inconvénients classiquement prêtés aux mésocosmes*

Avantages	Inconvénients/limites
– Capacité à simuler des conditions environnementales assez réalistes	– Caractère artificiel
– Prise en compte simultanée de différents niveaux trophiques	– Taille trop réduite
– Complexité suffisante pour assurer le maintien à terme de communautés fonctionnelles	– Importance des effets parois
– Capacité à mettre en évidence des mécanismes assez fins	– Importance des processus de sédimentation
– Gestion de plans factoriels complexes et analyse d'effets multifactoriels	– Manque de réalisme écologique
– Réplicabilité des traitements	– Faible représentativité
– Possibilité d'échantillonner les mêmes populations au cours du temps	– Prise en compte de fractions d'écosystèmes uniquement
– Facilité de mise en place des systèmes expérimentaux	– Faible rapport signal/bruit
– Rapidité d'acquisition des résultats	– Faible durée des expériences
– Facilité de publication des résultats	

I.4. Contrôle de la qualité des eaux : notion de bioévaluation

La préservation de la qualité des eaux est un enjeu majeur compte tenu des usages de cette ressource : production d'eau potable, loisirs aquatiques. Elle présente également un intérêt biologique pour la préservation de la faune aquatique notamment.

Le système d'évaluation de la qualité des cours d'eau se décompose en trois volets portant sur la physico-chimie de l'eau (SEQ-Eau), les caractéristiques physiques (SEQ-Physique, évaluation du degré d'artificialisation du cours d'eau), et les communautés biologiques (SEQ-Bio, évaluation de la qualité biologique du cours d'eau). L'état chimique est destiné à vérifier le respect de Normes de Qualité Environnementale fixées par des directives européennes et internationales. Cet état chimique comporte 2 classes, respect ou non respect des normes, est défini sur la base de concentration de 41 substances chimiques. Les éléments de qualité biologique à intégrer dans l'évaluation de l'état écologique permettent d'obtenir une vision globale de la qualité du milieu c'est-à-dire du fonctionnement de ces écosystèmes en prenant en compte la chaîne trophique (le phytoplancton, les diatomées, les macro-invertébrés, les macro-invertébrés et les poissons).

Le choix d'un indice résulte le plus souvent d'un compromis entre faisabilité, coût, information fournie, pertinence, application sans oublier les impératifs réglementaires. Les paramètres biologiques définissant l'état écologique comprennent les indicateurs suivants :

- Algues avec l'indice Biologique Diatomées (IBD);
- Invertébrés (insectes, mollusques, crustacés, etc.) avec l'indice Biologique Global Normalisé (IBGN);
- Poissons avec l'indice Poisson en rivières (IPR).

I.4.1. IBGN

L'IBGN est un outil diagnostique basé sur l'étude des macro-invertébrés. Cette méthode évalue l'aptitude globale d'un milieu à héberger des êtres vivants en prenant en compte, à la fois la variété des macro-invertébrés benthiques, et la représentativité des habitats présents sur la station. Néanmoins son application est limitée à des cours d'eau accessibles à pieds.

Il s'agit d'une méthode française normalisée d'évaluation de la qualité biologique d'un cours d'eau (Norme AFNOR NF T90-350, décembre 1992, révisée en mars 2004). Elle se réfère à la circulaire DCE 2007/22 du 11/04/07 relative au protocole de prélèvement et de traitement des échantillons des invertébrés pour la mise en œuvre du programme de surveillance sur les cours d'eau.

152 taxons entrent en ligne de compte et sont susceptibles de participer à la variété totale. Parmi eux, 38 indicateurs répertoriés en 9 groupes faunistiques permettent de calculer cet indice.

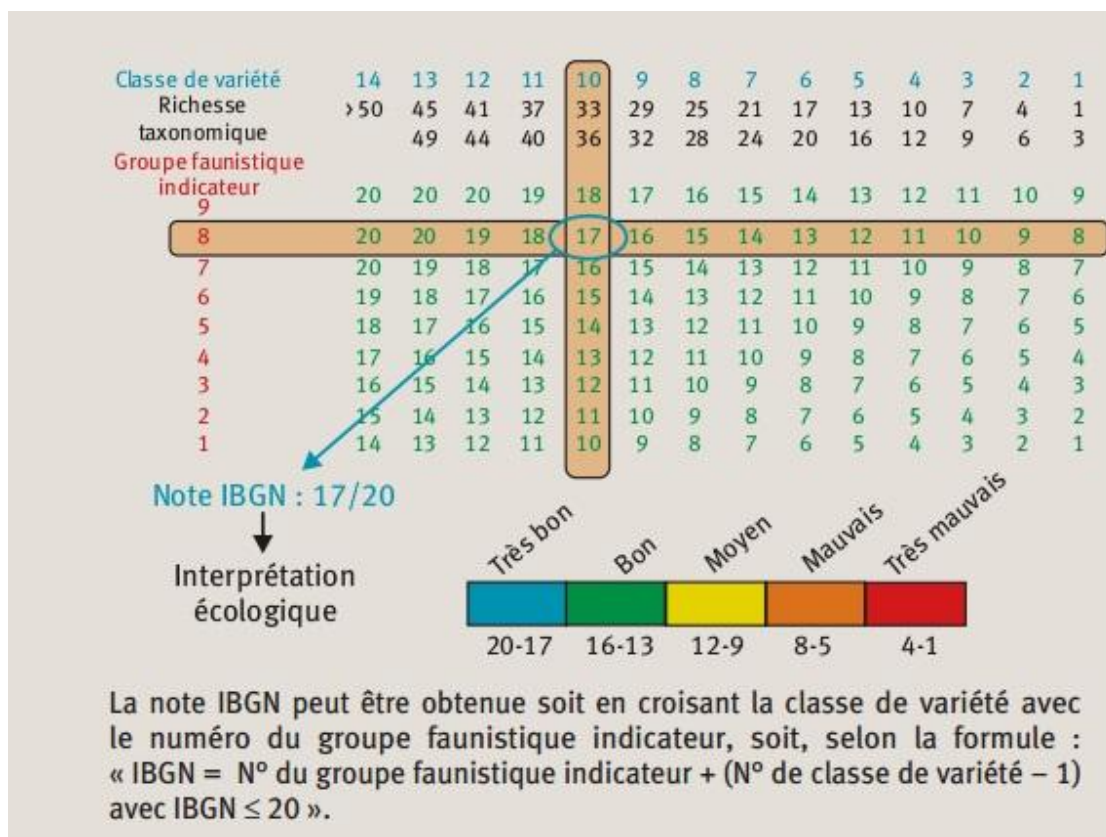


Figure 17 : Méthodologie de calcul de l'IBGN

I.4.2. IBD

Les diatomées sont des micro- algues unicellulaires, organismes présents dans tous les milieux aquatiques. Constituées d'un squelette silicieux, les échanges avec le milieu extérieur sont d'autant plus aisés et leur croissance dépend de la composition de l'eau. L'IBD est basé sur la probabilité de présence de taxons (individus). D'après la norme NF T 90-354 de décembre 2007 les étapes à réaliser pour déterminer l'IBD sont les suivantes :

- * Prélèvement des diatomées fixées sur des supports par point de mesures selon un protocole d'échantillonnage tenant compte des conditions hydrologiques, de la nature et de la taille des supports.
- * Préparation des diatomées visant à éliminer leur contenu cellulaire pour ne conserver que les squelettes, permettant une observation plus aisée. Les diatomées nettoyées font l'objet d'une préparation permanente entre lame et lamelle.
- * Comptage d'individus en n'identifiant que les groupes d'espèces (taxons) intervenant dans le calcul de l'indice.

Le calcul de l'indice par point de mesures s'exprime par une note comprise entre 1 et 20. La note 0 est attribuée aux points de mesures où il n'a pas été possible de dénombrer 400 diatomées.

L'inventaire des peuplements est un indicateur de pollution organique et d'eutrophisation car de part leur nature les diatomées sont sensibles à la matière organique, aux éléments nutritifs (azote et phosphore), à la minéralisation et au pH. L'IBD s'applique sur les cours d'eau naturels ou artificialisés, à l'exception des zones salées. Sa mise en œuvre se déroule principalement en été afin de privilégier les périodes de bas débit plus représentatives de la qualité de l'eau. Mais dans le cadre de comparaison temporelle, son application peut être réalisée toute l'année. Les limites de cet indicateur sont une faible sensibilité aux pollutions ponctuelles et une mise en œuvre nécessitant un personnel hautement qualifié.

I.4.3. IPR

La mise en œuvre de l'IPR consiste globalement à mesurer l'écart entre la composition du peuplement sur une station donnée, observée à partir d'un échantillonnage par pêche électrique, et la composition du peuplement attendue en situation de référence, c'est-à-dire dans des conditions pas ou très peu modifiées par l'homme. La mise au point de l'IPR s'inspire d'outils multiparamétriques. Ces indices consistent à évaluer le niveau d'altération des peuplements de poissons à partir de différentes caractéristiques des peuplements (ou métriques) sensibles à l'intensité des perturbations anthropiques et qui rendent compte notamment de la composition taxonomique, de la structure trophique et de l'abondance des espèces.

La détermination de l'IPR est une méthode normalisée NF T90-344 (mai, 2004). Les données nécessaires au calcul de l'indice sont les résultats de l'échantillonnage piscicole et les données environnementales.

DEUXIEME PARTIE : Ecophysiologie/écotoxicologue/bioindicateurs

II.1. Bio accumulation des micro-polluants par les organismes marins : notion de bio indicateurs.

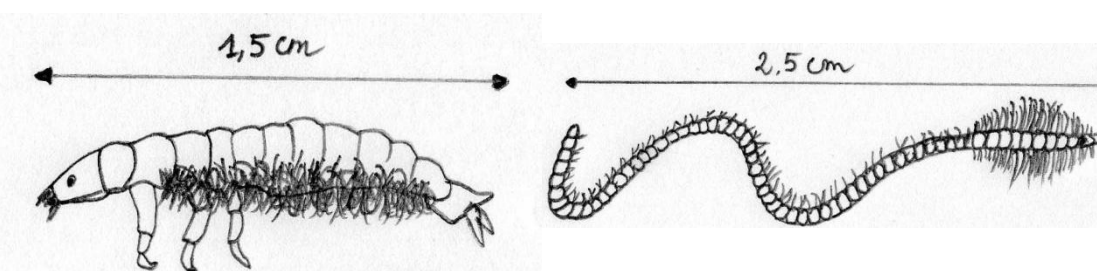
II.1.1. La situation-problème

Cette situation est une fiction : Un biologiste de la station d'épuration d'Achères, chargé d'analyser régulièrement des prélèvements d'eau dans la Seine, doit remettre son compte-rendu hebdomadaire au syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne (SIAAP). Il arrive au SIAPP pour démontrer qu'il existe une pollution fluviale, au niveau de la ville de Poissy, due à un dysfonctionnement de la station d'épuration de la ville d'Achères. Avant de présenter ses résultats et ses déductions, il relit son dossier. Malheureusement, il s'aperçoit qu'il a oublié ses conclusions à la maison et n'a en sa possession que les documents ci-dessous.

Les supports de travail :

1. Les larves de phrygane ont besoin de beaucoup de dioxygène contrairement au tubifex. Les larves de phrygane sont de petits insectes (2 cm de long) bien connus des pêcheurs qui les utilisent comme appât. Elles se fabriquent une « maison » en se tissant un habit avec des fils de soie qu'elles sécrètent.

Les tubifex sont de petits vers rouges qui vivent en colonie au fond des mares et des cours d'eau. A la moindre alerte, ils sont capables de s'enfouir en quelques secondes dans la vase et de ressortir aussi rapidement.



Larve de phrygane

Tubifex

2. Les égouts rejettent des eaux riches en matière organique (eaux polluées). Les bactéries se nourrissant de cette matière organique et consommant le dioxygène présent dans l'eau, se multiplient rapidement.

3. Répartition et abondance de deux animaux dans une rivière en amont et en aval d'un rejet d'égout.

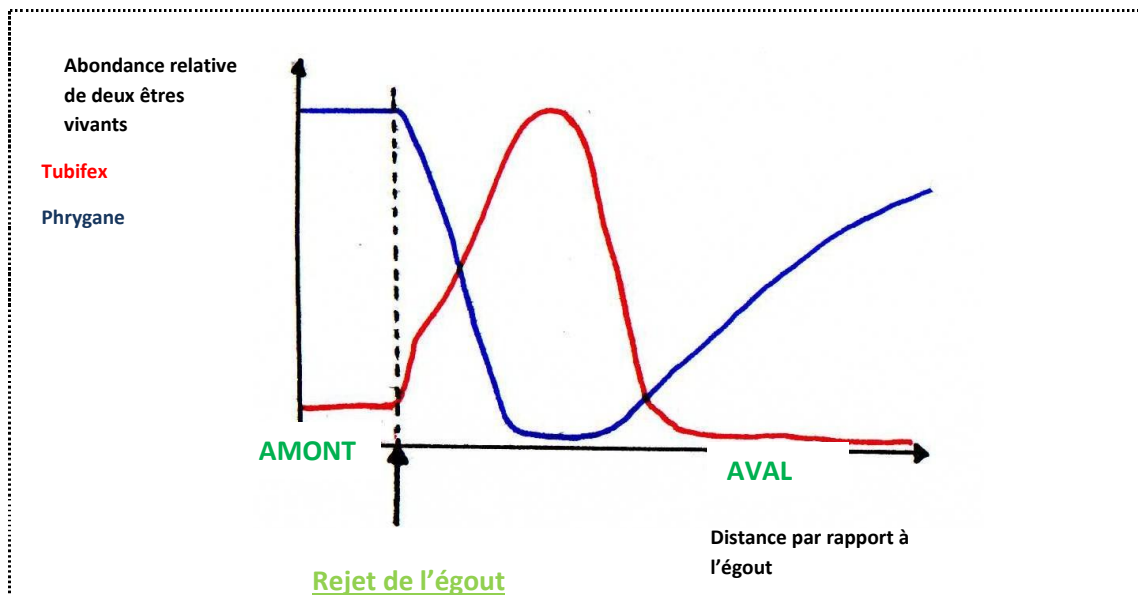


Figure : Évolution de la quantité de deux êtres vivants le long d'une rivière dans laquelle se jette un égout

A l'aide des documents ci-joints, rédiger un texte permettant de démontrer que la station d'Achères, en panne, a rejeté des eaux polluées.

II.1.2. Définitions

Quelques définitions concernant la notion de bio-indication qui, avec l'avancement des travaux de recherche, se diversifie et recouvre en réalité plusieurs concepts.

Blandin (1986) donnait du bio-indicateur la définition suivante : « *Un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui - par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques - permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées* ».

Garrec et Van Haluwyn (2002) donnent un sens plus restrictif au terme de bio-indicateur dans la mesure où ils le considèrent comme « *un simple relais ne faisant référence qu'à des effets observables au niveau de l'individu se traduisant par des altérations morphologiques, tissulaires ou physiologiques (croissance et reproduction)* ». Les auteurs prennent ainsi la réaction au niveau individuel.

Lorsque la réaction se situe au niveau populationnel et/ou communautaire (disparition ou apparition d'espèces, variation densitaire), on utilisera le terme de bio-intégrateur. Les propos d'Echaubard (1995) concernant le monde animal peuvent être facilement transposés au monde végétal : « *Toute disparition ou apparition d'une espèce, toute modification de l'abondance relative d'une espèce ou de la structure des peuplements végétaux d'un écosystème signifie donc une modification de l'environnement de cette espèce. Toute chose étant égale par ailleurs, l'introduction d'un polluant dans le milieu peut donc jouer le rôle d'acteur perturbateur, modifiant la structure des peuplements végétaux* ».

Pourquoi parler de bioindicateurs par rapport à l'analyse de composés chimiques abiotiques ?

* pour des raisons de détection analytique : une concentration dans l'environnement peut ne pas être facile à mesurer (concentration sous forme de traces). Or la concentration du polluant dans les êtres vivants est très supérieure à la concentration dans les biotopes (bioconcentration). Le monitoring biologique permet de travailler avec des niveaux de concentration plus élevés.

* parce que la mesure sur un être vivant informe de la disponibilité réelle du polluant pour la biomasse : cette mesure va nous donner des indications sur la bioaccessibilité du polluant chez cette espèce

* parce que l'intégration dans les êtres vivants de contaminants se fait pendant une période relativement longue, par opposition à la présence parfois fugace, inaperçue, d'un polluant dans le milieu inerte.

→ Selon les cas, l'utilisation de bioindicateurs est plus facile qu'un monitoring chimique.

Mais complexité de l'interprétation :

* s'il y a eu une période longue, il y a eu accumulation mais aussi variation dans le temps. Comment faire la part de la contribution du facteur temps par rapport à celle des facteurs de variation ?

* impact différencié selon l'espèce et le type de polluant.

II.1.3. Caractéristiques d'un bon bio-indicateur

* il faut que ce soit une espèce relativement **sédentaire**, car si elle vient de changer d'habitat on ne peut espérer qu'elle représente quelque chose de significatif pour l'écosystème qu'on étudie → association entre concentration observée et site géographique.

* il faut que ce soit une espèce **abondante** pour refaire l'expérience plusieurs fois, favoriser la représentativité, la reproductibilité des associations.

* il faut que ce soit une espèce à **forte longévité** afin de pouvoir réaliser l'étude sur plusieurs classes d'âge et de pouvoir évaluer les effets à court et long terme.

* il faut que l'espèce ait une **taille suffisante** pour la dissection et pour fournir une quantité de tissus à analyser suffisante. De plus, la taille doit être suffisante pour permettre la facilité d'échantillonnage en tant que telle.

* la corrélation doit être relativement simple entre l'organisme et le biotope - (C)organisme et (C) biotope, alimentation.

Exemple : concentration en zinc et en cuivre dans les tissus de vers échantillonnés dans plus de 20 sites estuariens en fonction de la teneur en zinc et cuivre dans les sédiments correspondant.

En abscisse : concentration du métal (cuivre, zinc) dans le sédiment ; en ordonnée concentration en cuivre et zinc dans les tissus.

Variable indépendante : concentrations dans l'environnement.

On observe que les teneurs en cuivre dans les vers croissent en même temps que les teneurs en cuivre dans les sédiments. En revanche, la teneur en zinc dans les vers est indépendante de la teneur en cet élément dans les sédiments.

Pourquoi ? le zinc est régulé, le cuivre pas nécessairement.

Si on veut faire un monitoring sur le cuivre, on pourra donc utiliser le ver comme bioindicateur. Si on s'intéresse au cas du zinc, il faudra indubitablement préférer une mesure de la contamination des sédiments et faire donc un monitoring chimique plutôt qu'un monitoring biologique.

Note : les concentrations (C) peuvent fluctuer selon les saisons dans le biotope ou dans l'espèce. * difficulté d'un échantillonnage au hasard.

Ex : si (C) biotope $>$ ou $=$ DL50 \rightarrow organismes morts

si (C) biotope $>$ ou $=$ CI50 \rightarrow probabilité de capture augmente.

--> effet de méthode d'échantillonnage

* interaction entre divers polluants. Les interactions peuvent prendre différentes formes. La concentration d'une espèce peut être plus basse au moment où elle est mesurée qu'à d'autres moments du fait d'interactions.

II.1.4. Fiabilité des bio-indicateurs

La fiabilité des indicateurs est contrôlée par :

- les facteurs intrinsèques, propres à l'espèce bioindicatrice. Travailler sur une seule espèce n'est pas suffisant et il est recommandé de procéder à des analyses sur plusieurs espèces.
- les facteurs extrinsèques, environnementaux, liés à l'environnement. L'analyse de divers types d'exposition est recommandée.

A-Facteurs intrinsèques

***Cinétique du polluant dans l'organisme**

Les sujets d'une espèce donnée, soumis à un degré d'exposition donné, s'imprègnent du polluant. Si l'exposition se maintient, il y a évolution vers un état stationnaire de l'organisme, où les flux d'entrée et les flux de sortie deviennent équivalents. C'est un état d'équilibre : ce qui rentre dans l'organisme et ce qui en sort s'équilibrent.

On a donc tendance à représenter l'organisme comme étant un seul compartiment, ce qui est une grosse simplification :

Flux entrant \rightarrow organisme \rightarrow flux sortant

Dans les exemples de modèles à plusieurs compartiments, l'accumulation éventuelle pouvant concerner certains types de tissus (tissus durs pour le plomb, tissus graisseux pour les pesticides ...).

Un flux F_{ij} (masse de contaminant transférée par unité de temps de i vers j) est le produit du taux de transfert (K_{ji}) du compartiment j vers le compartiment i et de la quantité de polluant (Q_i) déjà présente dans le compartiment de masse M_i .

Le polluant se distribue dans l'organisme en obéissant à des facteurs cinétiques intrinsèques à l'espèce.

Dans le cas d'un seul compartiment, les variations de la quantité de polluant dans l'organisme sont régies par la différence entre la quantité de polluant pénétrant dans l'organisme par jour et ce qui sort (excrétion) Si le flux d'excrétion est plus petit que ce qui rentre dans l'organisme, il y a accumulation.

Les effets biologiques peuvent différer selon l'âge et ou le développement. Ainsi, les jeunes et les embryons de vertébrés ont un métabolisme plus intense pour une même concentration dans le biotope. Cette sensibilité accrue chez les jeunes et les embryons peut se manifester au niveau de l'absorption ou par une circulation plus intense que chez l'adulte. (relation entre le temps de demi-vie ($T_{1/2}$) et taille/poids des organismes).

On dirait qu'il y a une forme de relation : plus l'organisme est grand, plus le temps de demi-vie est long. En effet, la souris par ex. a un métabolisme beaucoup plus rapide par rapport à une autre espèce.

*Conditions physiologiques des individus de l'espèce bioindicatrice.

Il faut tenir compte de toute une série de paramètres parce que d'autres facteurs intrinsèques interfèrent avec la validité des conclusions du monitoring.

* Le métabolisme est lié au cycle des saisons.

La prise d'aliments varie au cours du cycle des saisons, ce qui peut affecter les concentrations qu'on va mesurer.

Ex. : variations saisonnières observées dans la concentration en PCB chez les invertébrés aquatiques. La concentration en PCB est rapportée à la teneur en lipides, qui varie selon les saisons. Il est donc nécessaire de multiplier les prélèvements sur le même site et aux diverses époques du cycle annuel.

* En plus de cela, il faut donner de l'attention :

- aux phénomènes de résistance
- aux états pathologiques/morbidité/stress. Certains individus peuvent être en moins bonne santé.
- aux possibilités de synergie entre plusieurs polluants.
ex: exposition simultanée au SO₂ et à l'HCl.

*Age et taille des organismes

La concentration dans l'organisme = masse du polluant/masse de tissu ou volume de fluide. L'âge et la taille ont donc un rôle dans la concentration observée. Comme nous l'avons déjà vu, les jeunes ont un métabolisme plus rapide, ce qui engendre une circulation plus rapide, pouvant affecter toute une série de choses. On parle de vulnérabilité : certains groupes, parmi lesquels les enfants chez l'Homme, sont vulnérables.

Ex : variation de la teneur en DDE (métabolite du DDT) et poids frais en fonction du temps. Faut-il penser qu'il y a eu une augmentation de la concentration à un moment ou faut-il penser à autre chose, au fait que c'est lié à une autre variable ? L'examen du poids des sujets montre que le poids a diminué. Le fait que la teneur paraît avoir augmenté ne paraît pas dû à une réelle modification de l'exposition mais serait plutôt un artéfact. En effet, on note simultanément une modification significative du poids de ces oiseaux. Il faudrait étudier la concentration et la quantité.

→ nécessité d'un échantillonnage homogène de l'espèce – individus de même sexe, âge et poids.

* Interaction entre polluants

Supposons qu'il y a dans un biotope :

- une concentration C1 d'un polluant
- une concentration C2 d'un deuxième polluant.

→ si la concentration en deuxième polluant est = 0 ou très petite, la concentration dans l'espèce = X.

→ si la concentration en deuxième polluant augmente, la concentration dans l'espèce = Y, qui est plus grande que la concentration X : synergie.

→ si la concentration en deuxième polluant augmente, la concentration dans l'espèce = Z, qui est plus petite que la concentration X : antagonisme.

Quels sont les mécanismes possibles lorsqu'il y a plusieurs polluants ?

* les interactions des polluants dans les biotopes sont complexes. La bioaccessibilité peut changer - soit être diminuée et l'absorption est alors réduite soit être augmentée et l'absorption est alors augmentée.

* la variation de la perméabilité des membranes affecte le taux de pénétration des polluants dans l'un ou l'autre sens.

* certains enzymes peuvent jouer un rôle. Les taux d'absorption et d'élimination peuvent être réduits ou augmentés.

* il peut y avoir enfin des modifications physiologiques (augmentation de la bioaccumulation).

Ex. : le cuivre et le cadmium donnent lieu à une synergie chez les Poissons.

*Niveau trophique des organismes

La concentration (C) en polluant dans une espèce au sommet de la pyramide écologique peut être très importante suite au processus de bioaccumulation. Les résultats seront donc différents selon que l'on prenne une espèce au sommet ou non de la pyramide écologique. Les concentrations (C) sont les plus grandes chez les prédateurs.

Ex. pour la dieldrine.

Ex. pour le mercure.

Pour rappel, il y a parfois absence de bioaccumulation, c'est-à-dire simple transfert (facteur de transfert = 1) et parfois réduction de concentration (facteur de transfert inférieur à 1), lorsque par ex. le polluant est arrêté, par ex. par la barrière intestinale.

Selon les objectifs du monitoring, on se sert d'espèces situées plus ou moins haut dans la chaîne alimentaire. Dans certains cas, il peut être intéressant d'étudier un animal situé plus haut dans la chaîne alimentaire. Le choix de l'espèce étudiée doit être justifié.

B- Facteurs extrinsèques

*Facteurs abiotiques

Quels sont les facteurs abiotiques ?

- la température
- les précipitations (ex. : végétaux)
- le pH des eaux (ex. : poissons)

*Bioaccessibilité (spéciation).

La bioaccessibilité dépend notamment de facteurs extrinsèques. Ex. : elle dépend des caractéristiques du sol. Des sols riches en acides humiques stockeront des teneurs plus importantes de métaux comme le plomb ; lessivage (pH).

*Durée et intensité de l'exposition.

Des expériences en laboratoire permettent de suivre l'évolution de tel ou tel polluant en fonction du temps. Ex. Suivi en laboratoire de la concentration en dieldrine dans divers tissus et dans le sang chez le rat. ex : corrélations entre la concentration de dieldrine dans le sang de rats femelle et la concentration dans le foie et la graisse. Il y a une corrélation entre la concentration dans le sang et celle dans le foie et la graisse. Rem. : ce polluant a une affinité pour les tissus graisseux.

les résultats d'une étude démontrent les concentrations de dieldrine pendant 183 jours dans le foie et les graisses, les concentrations évoluent pendant un certain temps, qui correspond au temps nécessaire pour approcher un état stationnaire. Les quantités relatives de polluant dans divers tissus ne sont constantes que près de l'état stationnaire pour chaque compartiment.

→ La prise d'échantillons trop tôt après une modification de l'exposition mènerait à sous-estimer l'impact de l'exposition. La durée d'exposition est donc un paramètre important.

Dans l'écosystème, l'exposition des animaux sauvages n'est pas nécessairement constante chez un individu ni semblable entre plusieurs individus. L'identification du degré d'exposition et de l'écart à un état stationnaire si l'exposition est constante n'est pas aisée.

II.1.5. Exemples d'indicateurs biologiques d'accumulation

*Espèces bioaccumulatrices en milieu aquatique : algues, mousses aquatiques, mollusques ...

*Espèces bioaccumulatrices en milieu terrestre : les lichens, les mousses, plantes à bulbes, à tubercules ; légumineuses ; carottes ; les annélides (vers de terre), oiseaux, mammifères...

II.1.6. Utilisation du critère de présence-absence (Monitoring d'espèces-sentinelles)

On utilise dans le monitoring des critères de présence/absence d'espèces-sentinelles, d'espèces sensibles.

On distingue :

- les espèces pollusensibles, c'est-à-dire celles dont l'abondance diminue si la concentration de polluant augmente
- les espèces pollutolérantes, c'est-à-dire celles dont l'abondance augmente si la concentration de polluant augmente.

II.2. Effets cellulaires et notion de biomarqueurs de pollution

II.2.1. Introduction et définition : Ce cours vise à sensibiliser les étudiants aux problèmes discrets de la qualité de l'environnement. Après avoir étudié le comportement et les effets visibles des différents contaminants, comprendre les effets cellulaires et moléculaires de ces derniers est crucial.

Les biomarqueurs peuvent être définis comme des «changements structuraux ou fonctionnels observables et mesurables, qui prennent place à différents niveaux de l'organisation biologique, depuis la molécule jusqu'à l'organisme pris dans son intégralité, qui traduisent une exposition persistante ou passée d'un individu à une ou plusieurs substances polluantes».

Leur intérêt a engendré le développement d'un grand nombre depuis 30 ans. Un biomarqueur **doit respecter plusieurs critères** pour son adoption par la communauté scientifique citons :

- Il doit être proportionnel à la quantité de toxique (réponse-dose dépendante)
- Il doit être validé sur le terrain
- Doit être sensible à une exposition à un polluant ou de servir comme un signal précoce d'effet et être appliqué sur larges échelles de temps et d'espace.
- Doit être une mesure d'une réponse représentative d'un processus biologique important.
- Le temps de réponse à une contamination spécifique doit être connu.
- Doit être facile à mesurer ; si possible à faible cout.

II.2.2. Classes de biomarqueurs

- A- **Biomarqueurs d'exposition** : substance exogène, métabolite primaire ou réponse à une interaction entre un agent xénobiotique et une molécule ou cellule cible, mesurée dans un compartiment de l'organisme. Exemples : induction du cytochrome P450, inhibition de l'acétylcholinestérase.
- B- **Biomarqueurs d'effet** : altération biochimique, physiologique, comportementale ou autre mesurable dans un organisme, qui, selon son ampleur, peut être reconnue comme étant associée à une atteinte confirmée ou possible de l'état de l'individu ou à une maladie. Exemple : formation d'adduits à l'ADN.
- C- **Biomarqueurs de sensibilité à l'effet ou de susceptibilité** : c'est un indicateur de la capacité innée ou acquise d'un organisme à répondre à l'exposition à une substance xénobiotique spécifique. Exemples : accumulation de protéines de shock thermique chez le blé dur comme moyen d'adaptation.

II.2.3. Les tests sur les biomarqueurs :

A- Tests de Génotoxicité : (biomarqueurs de dommage/ d'effet)

La génotoxicité est une toxicité qui s'exerce sur le matériel génétique des cellules.

Limites : Comme Salmonella est un organisme procaryote, il ne représente pas un modèle parfait pour l'Homme. Un modèle *in vitro* ou *in vivo* plus adapté a été créé pour les cellules eucaryotes. C'est le test dit « d'aberration chromosomique ».

***Test de Comètes :** Cette technique fut mise au point en 1984 par Osting O et Johanson K dans le but de détecter les cassures doubles brins de l'ADN. La lyse et l'électrophorèse fut effectuées dans des conditions neutres et la coloration avec de l'acridine orange (l'acridine se lie à l'ADN et à l'ARN grâce à ses propriétés d'intercalation). Elle fut ensuite optimisée par Singh et all en 1988 afin de détecter les cassures simples brins. L'électrophorèse se réalise dans des conditions fortement alcalines afin de relaxer et de détendre l'ADN super enroulé.

Principe: Le test des comètes ou *Single Cell Gel Electrophoresis* (SCGE) est une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose. Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique et indirectement lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN tel que l'apoptose.

Mode opératoire: Les cellules après un contact avec un agent altérant la structure de l'ADN (isotopes, agents oxydants ou autres molécules toxiques) pendant un temps donné sont décollées de leur boîte de pétri pour y être englobées dans un gel d'agarose et déposées sur une lame de microscope. Elles sont ensuite soumises à l'action d'un agent alcalin (pH 10) qui a pour effet de lyser les cellules (destruction des membranes, des protéines et des ARNs) et de libérer les noyaux. Ces derniers sont ensuite incubés dans un tampon d'électrophorèse basique (pH 13) pour faciliter la dénaturation, la détorsion de l'hélice et l'exposition des sites sensibles aux agents alcalins. L'ADN ainsi relâché, est soumis à une électrophorèse (de faible voltage et ampérage) puis révélé par addition d'un intercalant fluorescent (le Bromure d'éthyidium).

- Si l'ADN n'a pas été endommagé (reste sous forme super enroulé) sera révélé sous forme d'une sphère compacte.
- Si l'ADN a été endommagé, celui-ci présentera en plus des fragments simples et doubles brins (plus légers) qui migreront en dehors de cette sphère formant un "halo" d'ADN qui s'étirent en direction de l'anode et décrivent la queue de la comète.

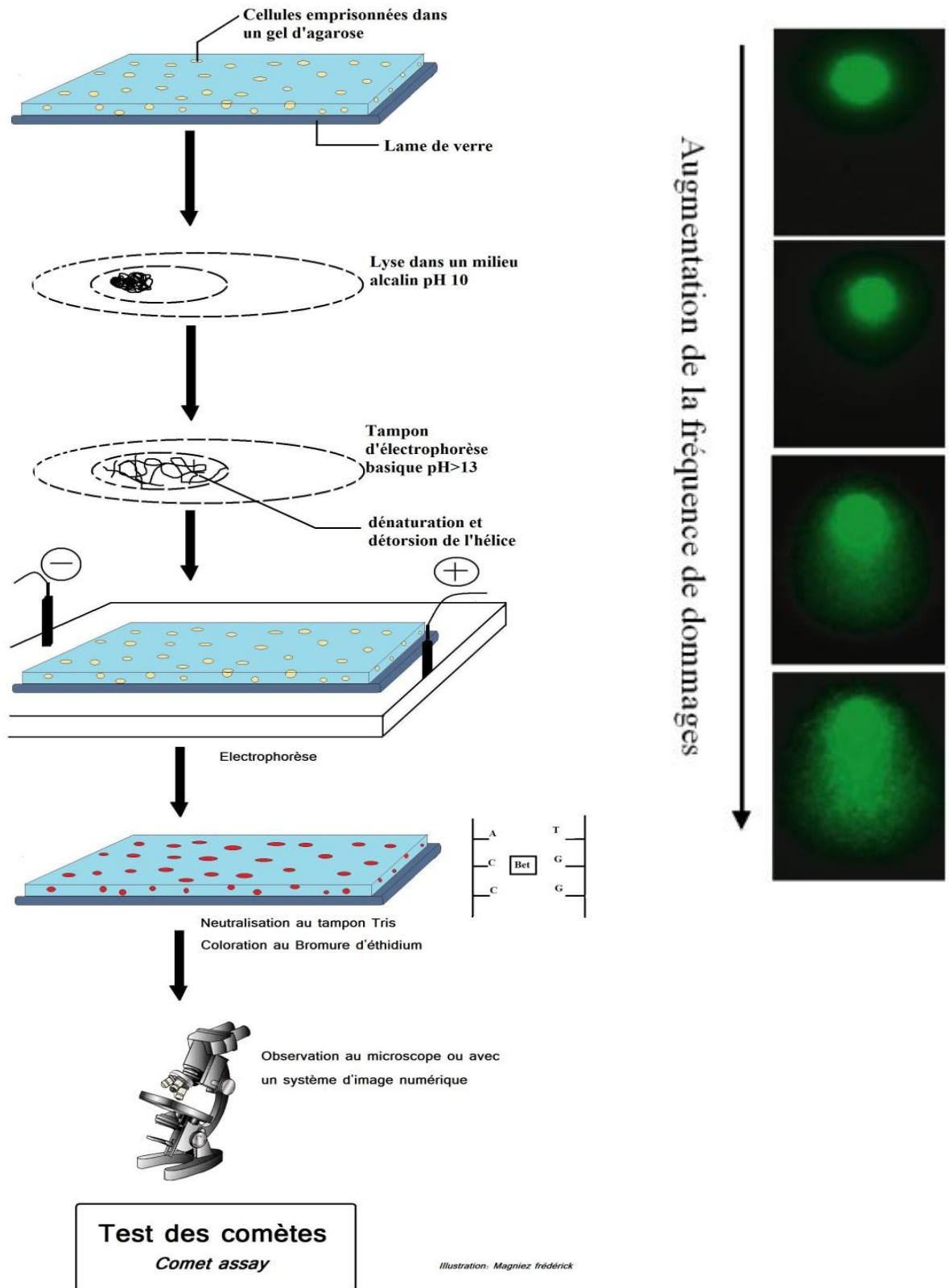


Figure 19 : Principe du test de comètes

Exemples d'application:

- Evaluation des produits chimiques génotoxiques in vivo et in vitro.
- Etude sur la réparation de l'ADN (réparation par excision; Strand Break Repair).
- Etude sur les dommages causés à l'ADN
- En éco-toxicologie: test utilisé pour surveiller les sols et étudier la toxicologie aquatique.
- Evaluation des polluants génotoxiques provenant de sites de déchets dangereux.
- Epidémiologie de l'homme: Banque de sang.

***formation d'adduits à l'ADN :**

De nombreux contaminants sont susceptibles d'interagir, directement ou indirectement, avec le matériel génétique des organismes exposés. Les effets étant mesurés à l'échelle moléculaire, la réponse permet un diagnostic précoce. De plus, les altérations subies par l'ADN peuvent être associées à des effets délétères mesurés aux échelles biologiques supérieures. Ils représentent alors une opportunité d'associer les effets mesurés à l'échelle moléculaire vers les échelles biologiques supérieures, de l'individu jusqu'aux populations.

Certains contaminants peuvent former des liaisons covalentes, donc stables, avec l'ADN. Ils forment alors des **adduits** (pour « addition » et « produit »). Le plus souvent, ces liaisons ne peuvent se former qu'après l'activation métabolique du contaminant, comme c'est le cas pour les HAP.

Lorsqu'un xénobiotique pénètre dans l'organisme, il est soit éliminé sous forme inchangée, soit métabolisé (ou biotransformé) par des réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse suivies de réactions de conjugaisons. Dans la majorité des cas, les composés obtenus sont moins réactifs, moins toxiques et plus hydrosolubles, donc plus facilement éliminables. Néanmoins, l'oxydation de certaines substances donne des composés fortement électrophiles, capables de réagir avec les groupements nucléophiles des macromolécules biologiques que ce soit les protéines, les lipides ou les acides nucléiques.

Moyens de réparation /ou de dommage :

- Apoptose (mort cellulaire programmée) réparation fidèle
- réplication de l'ADN malgré la présence d'adduits (réparation infidèle)

- mutations

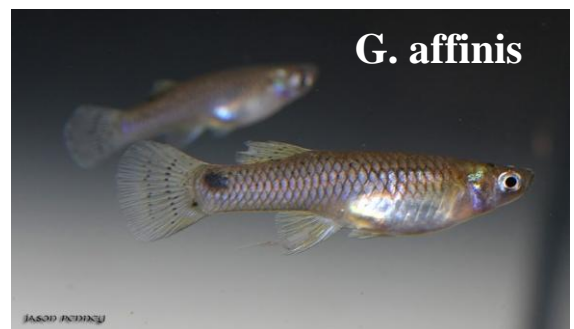
Conclusion : Les biomarqueurs de génotoxicité se basent sur la mesure des dommages à l'ADN. Le test comète quantifie les cassures de brin, tandis que le test micronoyaux renseigne sur des anomalies chromosomiques avérées. Tous deux permettent la détection d'effets précoces de la contamination vis-à-vis des organismes, et intègrent les réponses associées à un large spectre de contaminants. De plus, de part le caractère ubiquiste et héréditaire de l'ADN, ces mesures effectuées à l'échelle moléculaire permettent d'appréhender les conséquences aux échelles biologiques supérieures.

B- Les biomarqueurs de Neurotoxicité :

L'Acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh), le neuromédiateur permettant l'arrêt du signal nerveux chez les vertébrés. L'inhibition de son activité est susceptible d'affecter la fitness des individus exposés par le biais de réduction de la croissance, de la survie ou des capacités de reproduction. Le système nerveux est une cible privilégiée pour les insecticides. Ainsi de nombreux travaux visent à évaluer l'effet de ces molécules dans l'environnement et utilisent la mesure de l'activité AChE en tant que biomarqueur d'exposition à un contaminant neurotoxique. Certaines études ont par ailleurs démontré un impact des herbicides sur l'activité AChE chez le poisson. De manière générale, les poissons exposés présentent une inhibition de l'activité AChE dans le cerveau, mais celle-ci est variable selon les espèces.

L'exposition à une même dose d'oxyfluorfen, un herbicide à spectre large, entraîne par exemple une baisse de l'activité AChE 3 fois plus forte chez *O. niloticus* que chez *G. affinis*.

Oreochromis niloticus (or a hybrid of it) from Punggol Park Pond, Singapore
13.5cm TL, 17 June 2004, Photo by Beng Yong Tang



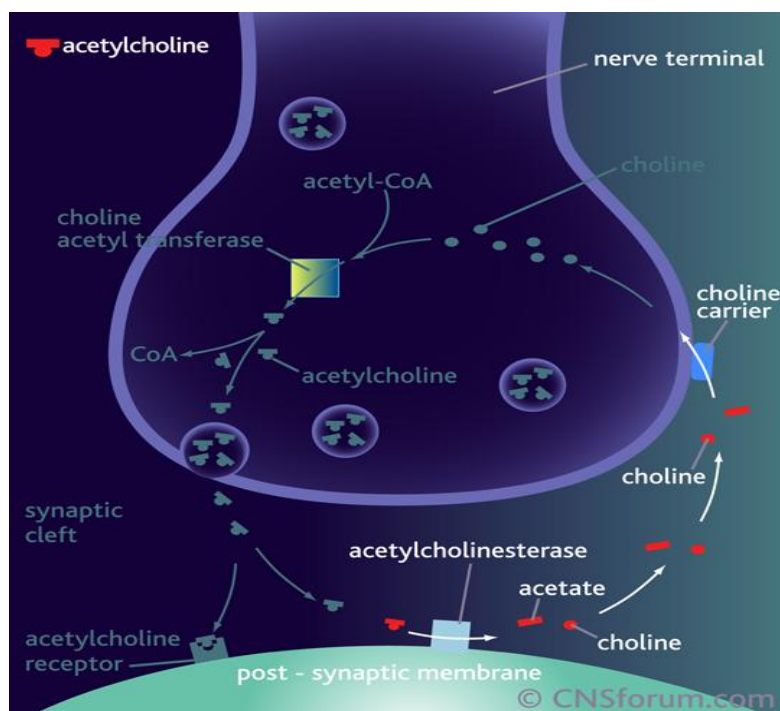


Figure 20 : Mécanisme d'action de l'acétylcholinestérase

Note : certains médicaments utilisés lors du traitement de la maladie d'Alzheimer reposent sur le principe d'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase pendant les stades précoces de la maladie.

C- Les biomarqueurs du stress oxydant :

Le mécanisme de défense antioxydant est également utilisé comme support d'études de biomarqueurs. Le métabolisme aérobie induit en permanence la formation de radicaux libres (molécules contenant un ou plusieurs électrons non appariés : l'ion oxyde $O^2\cdot$, l'ion hydroxyle $OH\cdot$ et l'ion peroxyde $O-O\cdot$). Cette production est compensée par des mécanismes antioxydants, maintenant l'homéostasie redox. Ces mécanismes sont répartis en deux classes : les systèmes de défense enzymatiques (Superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) et non-enzymatiques (glutathion, vitamine E, ascorbate, β -carotène, et urate). Lorsqu'un déséquilibre se crée entre la production et la neutralisation des radicaux libres, l'organisme est soumis à un stress oxydatif. Les radicaux libres tendent en effet à se stabiliser en arrachant les électrons nécessaires à leur stabilité aux molécules présentes dans la cellule.

Lipides, protéines et acides nucléiques sont alors susceptibles d'être altérés, mettant ainsi en jeu l'intégrité des cellules.

De part leur caractère non spécifique, les biomarqueurs de stress oxydatif peuvent être utilisés comme indicateurs globaux de l'état de pollution. Ces systèmes fonctionnant en permanence, ils sont rapidement induits quand l'équilibre oxydatif est rompu ils permettent donc une détection précoce de l'exposition des organismes à un stress, avant même que l'intégrité de la cellule ne soit altérée. En revanche, en raison du grand nombre de perturbations pouvant moduler le statut oxydatif, il est difficile d'établir une relation entre la nature de la perturbation et l'effet mesuré. Plusieurs études expérimentales ont néanmoins pu associer une activation de ce système avec l'exposition des poissons à des herbicides.

***Peroxydation lipidique**

Les membranes lipidiques sont particulièrement affectées en cas de stress oxydatif. En raison de leurs doubles liaisons, les acides gras polyinsaturés sont particulièrement sensibles à la peroxydation. En effet, quand un lipide polyinsaturé est oxydé, la formation du radical peroxyde lipidique qui en résulte peut à son tour oxyder une nouvelle chaîne non saturée et propager la réaction.

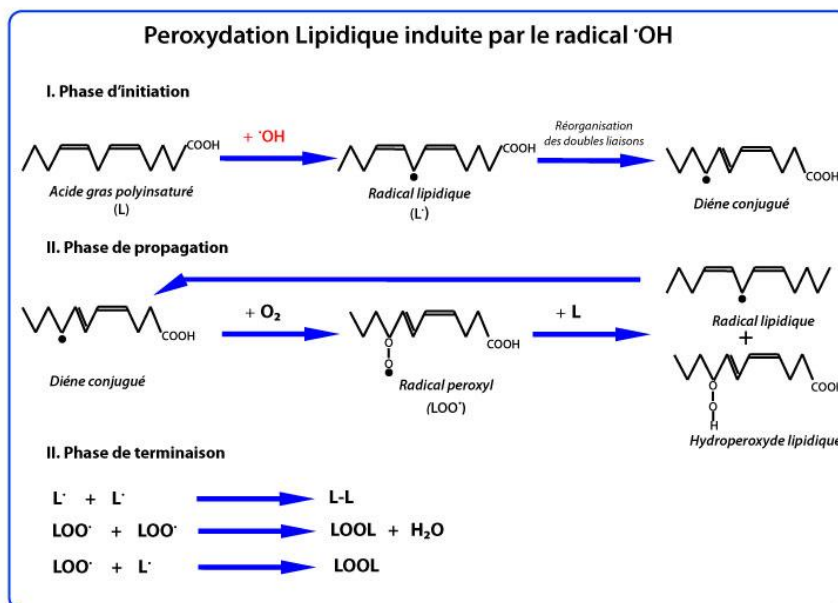


Figure 21 : Séquence de réaction de peroxydation lipidique

Les membranes peroxydées perdent leur fluidité et leur perméabilité. De plus la plupart des produits de la lipo-peroxydation (radicaux alkoxy, aldéhyde, alcanes, époxyde et alcools) sont toxiques et certains sont mutagènes.

Liste d'agents antioxydants :(non exhaustive)

-**Agent de conjugaison** exemple le *Glutathion OH* et H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène)

-**Enzymes** : *catalase* (H_2O_2) ; *Glutathion peroxydase* (*OH* et H_2O_2) ; *superoxyde dismutase* (transforme le RL peroxyde en peroxyde d'hydrogène moins réactif).

-**Indoles végétaux**

-**métaux** : cuivre, fer, manganèse et zinc en activant l'enzyme superoxyde dismutase

Ansi que le sélénium nécessaire à la glutathion peroxydase .

-**Prohormones** :

Déhydroépiandrostérone : prohormone stéroïde est synthétisée dans les glandes surrénales et évolue ensuite en hormones androgènes et œstrogènes.

Mélatonine : fabriquée dans l'épiphyse (*glande pinéale*) du cerveau pendant la nuit, selon une horloge biologique interne, et exerce une régulation de la glande thyroïde hormonale pour se débarrasser de radicaux libres formés pendant la journée.

-**Vitamines** : provitamine *A* (beta-carotène), *B5*, *C*, *E*, *B9*, *P* (polyphénol de végétaux) et vitamine *Q10* des poissons (appelée aussi coenzyme Q10 ou ubiquinol).

-**Coktail d'antioxydants** : l'*Ail* avec les métaux Mn, Se, Zn et vitamines A et C.

II.3. Effets de la pollution sur la physiologie des organismes.

Ce chapitre permet de mettre en évidence les effets des polluants sur différents niveaux des écosystèmes. Différents exemples montrent qu'on peut parfois réagir plus tôt. La démarche recouvre l'étude de l'action des polluants sur les peuplements végétaux et animaux propres aux divers écosystèmes, les impacts sur les ressources biologiques, voire la pérennité de la biosphère toute entière.

Des espèces et des populations peuvent être éliminées très vite par les polluants introduits dans les écosystèmes. Les effets des polluants sur les populations résultent de leur toxicité aiguë ou chronique.

Ils peuvent se manifester par une mort immédiate ou différée. Exemples :

- l'usage de pesticides entraîne une mortalité par intoxication aiguë ou subaiguë et une réduction des populations aviennes.
- l'ingestion de plomb de chasse contenu dans les charognes menace le rarissime Condor de Californie d'extinction.

Cependant, un polluant, sans provoquer la mort des individus contaminés peut engendrer des effets écologiques redoutables. Les effets de concentrations sublétales se manifestent de façon indirecte :

- en modifiant la croissance (diminution de la croissance), la natalité et/ou la reproduction des espèces. La diminution de la croissance ou de la natalité vont entraîner d'autres conséquences démoécologiques désastreuses :
 - perturbation de la fécondité et/ou de la fertilité des adultes provoquant une diminution du succès de la reproduction, donc du potentiel biotique, de l'espèce considérée
 - baisse du recrutement de la classe d'âge reproductive à la génération suivante
 - autres effets réduisant la vitesse de croissance et/ou augmentant la mortalité des juvéniles.
- en affectant la photosynthèse chez les végétaux.

Tableau 5 : Principaux types d'effets démoécologiques des polluants à doses sublétales affectant le potentiel biotique et/ou le cycle vital

processus démoécologiques	effets critiques du polluant
production de gamètes gamètes : cellule haploïde : cellule reproductrice, spermatozoïde ou ovule. Les gamètes s'unissent durant la reproduction sexuée pour produire un zygote diploïde.	dommages génétiques, développement anormal des gamètes, fécondité réduite dans les deux sexes
fécondation	entrave au mouvement des spermatozoïdes et à leur capacité de fertiliser l'ovule
développement embryonnaire	altérations chromosomiques, interférence avec le métabolisme de l'oeuf, anomalie de l'organogenèse
éclosion	anomalies tératogéniques induisant des échecs d'éclosion, forte mortalité néonatale
croissance	altérations de la croissance : <ul style="list-style-type: none"> - dommages écophysiologiques ralentissant la croissance (→ retard dans la maturation sexuelle). - les jeunes larves éclosent à une période de l'année qui ne leur est pas favorable. - menaces sur la survie larvaire des mollusques. Le cuivre et le zinc perturbent la mue de la crevette. - échecs de la métamorphose
comportement	altérations du comportement : <ul style="list-style-type: none"> - entrave à l'alimentation - inhibition : pas de fuite devant les prédateurs. On a observé cela pour de jeunes canards exposés au méthylmercure, au cadmium ou au sélénium. - destruction des sites de parade - entrave au frai <ul style="list-style-type: none"> frai : rapprochement sexuel chez les poissons à fécondation externe. - parade et accouplement défectueux, comportement rendant l'accouplement inefficace.

Outre les effets létaux, les effets sublétaux sont d'une gravité tout à fait importante. Les effets sublétaux peuvent même parfois être plus redoutables que les effets d'un accident, d'un empoisonnement précis à un moment déterminé, car ils peuvent atteindre plusieurs générations.

TROISIEME PARTIE : Impact de la pollution sur la santé humaine

III.1. Bio manifaction

L'évaluation des risques (caractérisation des effets écologiques dangereux d'expositions environnementales à des dangers imposés par les activités humaines) comprend 4 étapes :

A- L'identification des dangers.

C'est l'identification des effets néfastes qu'une substance a la capacité de provoquer. Le but est d'identifier si un danger existe. Si oui, il faut déterminer les types d'informations scientifiques requises pour évaluer le degré de risque présent et les alternatives s'il y en a. Il s'agit ici de substances existantes. Il faut rassembler et évaluer les données sur :

- les effets de la substance
- les conditions d'exposition dans lesquelles les dommages environnementaux, les effets ou les maladies apparaîtront.

Ces informations proviennent des données d'accidents ; d'études expérimentales en laboratoire ; de mesures de contamination sur le terrain ; de mesures de résidus dans des tissus animaux ou végétaux ; d'études sur le lieu de travail ; de caractérisations du comportement de la substance dans l'organisme ; d'études des interactions de la substance avec des organes, des cellules, du matériel génétique.

→ On cherche des données et on réalise des recherches dans la littérature les plus poussées possibles.

B- L'évaluation des effets ou évaluation dose-effet.

Il s'agit d'une estimation de la relation quantitative entre la dose reçue (intensité de l'exposition à la substance) et son effet. Il peut s'agir de réponses directes à l'exposition, mais aussi indirectes, comme par ex. l'empoisonnement des insectivores du fait de l'accumulation de pesticides. On utilise des informations provenant : d'expérimentations animales ou végétales en laboratoire ou sur le terrain ; d'études des relations quantitatives; de tests de toxicité à court ou long terme ; de la revue des informations existantes sur les caractéristiques des écosystèmes potentiellement affectés ; d'études épidémiologiques sur des écosystèmes ou des populations

humaines ; de tentatives de modélisations d'informations pas toujours très nombreuses pouvant exister sur tel ou tel polluant...

° Les formes de relations dose-effet peuvent différer selon la durée et l'intensité de l'exposition. Ex. : benzène : toxicité aiguë (effets létaux), toxicité chronique (induction de cancers).

Le but est de déterminer le taux ne donnant lieu à aucun effet c'est-à-dire la dose NOEL (No-Observed Effect Level) = NEL (No-Effect Level). Celle-ci est déduite d'études en laboratoire.

On travaille sur des écosystèmes, dans lesquels des millions d'espèces peuvent être exposées par une variété de sources, ou sur l'Homme. Les tests de laboratoire couvrent seulement une petite partie de la variété de réponses susceptibles de se produire dans les écosystèmes ou chez l'Homme. Dès lors, en utilisant les doses NOEL, de larges parts des populations humaines ou des écosystèmes pourraient ne pas être protégées. Posséder des données sur une espèce très résistante ne va pas protéger les autres espèces plus sensibles.

L'incertitude porte sur :

- la variation des sources d'exposition
- la variation de sensibilité au sein d'une même espèce
- les variations entre espèces.

Il faut dès lors tenir compte de différents niveaux de vulnérabilité ; de différentes espèces ou compartiments (eau, air, sol, ...). Comment procède-t-on à cette fin ?

On convertit les taux sans effet en taux prédits sans effets pour l'homme ou pour les écosystèmes = PNEC (Predicted-No-Effect Concentration) ou PNEL (Predicted-No-Effect Level). Les facteurs d'incertitude, parfois appelés 'facteurs d'extrapolation reflètent le manque de données adéquates ou le degré d'incertitude à prendre en considération lorsqu'on extrapole des données de laboratoire à l'Homme. Ils permettent par exemple de définir des taux qui vont protéger les écosystèmes, alors qu'on ne dispose d'informations que pour une ou deux espèces. La plus haute dose NOEL est divisée par des multiples de 10 afin d'arriver à une valeur prédite sans effet pour l'homme ou pour un écosystème.

L'application de facteurs d'incertitude est liée au manque d'information. Plus on dispose d'information, moins on appliquera des facteurs d'incertitude. De telles extrapolations mettent en jeu des hypothèses. De nombreuses incertitudes scientifiques interviennent. Ceci a des répercussions lors des choix de réglementations.

C- Evaluation de l'exposition

Il s'agit de la détermination de l'étendue de l'exposition de l'Homme ou de divers compartiments de l'environnement à la substance dangereuse en question. Cela implique la description de la nature et de la taille des populations ou compartiments exposés ; la description de l'intensité et de la durée de l'exposition passée, présente (ou même future). S'il s'agit d'une substance existante, on mesure l'exposition à la substance. S'il s'agit de nouvelles substances on doit réaliser des modélisations. On étudie encore la circulation et la distribution des contaminants chimiques dans l'environnement, leur devenir, leurs éventuelles transformations ou dégradations (donnent-elles lieu à des dérivés plus ou moins toxiques ?)

Si possible, on construit des modèles d'exposition multi-sources, surtout dans le cas de l'évaluation de l'exposition environnementale.

L'incertitude autour de cette évaluation peut être importante parce que :

- on connaît mal les facteurs d'émission durant le processus de production de la substance (source ponctuelle) et on manque d'information sur d'autres sources diffuses liées à l'utilisation de la substance dans une série de produits manufacturés et sur le devenir de la substance.
- il y a une grande variabilité géographique et de grandes différences de conditions abiotiques (climat – t°, humidité, vitesse du vent, précipitations - , hydrologie – facteurs de dilution dans les rivières, les lacs, ... - , géologie – types de sols).
- les conditions biotiques (différences dans les structures et fonctions de l'écosystème) contribuent également à cette incertitude. Les différences entre conditions naturelles et conditions de laboratoire peuvent avoir d'importantes conséquences sur les conclusions, de même que les différences entre espèces étudiées et espèces les plus intéressantes pour l'évaluation des risques.

- l'exposition varie dans le temps et dépend des technologies utilisées et des mesures de sécurité prises. Certains paramètres peuvent être instables.

De plus, des incertitudes existent quant à la qualité des mesures elles-mêmes ou du fait d'un manque d'adéquation au problème des paramètres mesurés. Des erreurs d'identification des échantillons, des erreurs de calcul peuvent également survenir.

On peut observer également de grandes disparités dans des mesures de l'exposition professionnelle ou de l'exposition du consommateur à des produits. Pour réduire ces incertitudes, il est nécessaire d'effectuer de nombreuses mesures des concentrations réelles dans des situations diversifiées et autant que possible, dans des conditions standardisées.

Il convient donc de se poser un certain nombre de questions : certaines espèces sont-elles plus intéressantes que d'autres pour l'évaluation des risques ? quelles sont les variations de l'exposition dans le temps ? y a-t-il une instabilité de certains paramètres ? quelles sont les technologies qui ont été utilisées ? comment qualifier la qualité des mesures ? quelles sont les erreurs possibles ? est-ce que, dans les études, une attention a été portée aux erreurs, notamment dans le cadre de la prise d'échantillons ? quelles mesures de contrôle ont été prises ? etc. Cette liste de question n'est pas exhaustive mais constitue juste un aperçu du type de question qu'il faut se poser. C'est cela qui explique aussi que dans les différentes études, les mesures de concentration diffèrent souvent de plusieurs ordres de grandeur.

- les diverses sources sont souvent intégrées en une évaluation de l'absorption totale journalière pour l'homme (exprimée par exemple en mg de substances/j ou en mg/kg de poids corporel par jour).

on utilise des PEC (Predicted Exposure Concentration) pour déterminer quelle est la dose par telle ou telle voie d'exposition (ex. : inhalation) ou quelle est l'absorption journalière totale. Mais, plutôt que de dériver de nombreuses valeurs d'absorption totale journalière (PEC) pour chaque espèce on dérive des valeurs PEC pour des compartiments donnés dans l'environnement (air, eau, sédiment, sol).

Des facteurs d'incertitude peuvent être appliqués pour définir une PEC – par exemple dans le cas où deux études livrent des résultats très différents.

Dans les évaluations actuelles, expositions et relations dose-réponse doivent s'effectuer de manière conjointe et liée.

Il est important également d'avoir conscience qu'il y a des incertitudes plus ou moins quantifiables et des incertitudes non définies.

Pour les nouvelles substances, on dispose d'informations produites dans des conditions standardisées.

D- Caractérisation du risque

Elle inclut :

- la description de la nature et souvent également de l'intensité du risque écologique en intégrant l'information obtenue depuis toutes les composantes
- une évaluation quantitative et qualitative du degré d'incertitude
- une estimation de la probabilité du risque. S'il y a eu identification d'un danger potentiel, on examine la probabilité du « risque » c'est-à-dire que l'on considère qu'il y a absence de risque s'il n'y a pas exposition.

Une procédure pour évaluer la significativité du risque est développée qui prend en compte la part d'hypothèses, d'incertitudes et de jugements ou d'opinions qui sont intervenus au cours des différentes étapes ci-dessus → la caractérisation du risque tient en compte le nombre d'hypothèses qu'on a dû faire, la part de jugements et d'opinion.

Il faut noter que les évaluations précises des risques font défaut et que les scientifiques tirent éventuellement des conclusions différentes de même données plus ou moins fiables, en particulier si des jugements de valeur implicites sont indiqués.

Nous avons évoqué plus haut certaines incertitudes dans les évaluations. Dans certaines situations, des expositions beaucoup plus élevées pourraient se produire dans l'avenir. Des projections dans le futur pour déduire que le risque associé à certaines substances est nul peuvent être fort hasardeuses. C'est dire qu'il y a matière à divergence dans les appréciations du risque et de la probabilité de tel ou tel incident ou accident et dans les choix de la prise de décision.

Il faut essayer d'exprimer tout cela en termes intelligibles et les plus clairs possible afin que la communication du risque puisse avoir lieu auprès des preneurs de décision et du public. La communication du risque doit être liée directement au problème posé et aider la prise de décision.

On exprime souvent le risque comme le quotient entre une PEC et une PNEC (PEC/PNEC). Le but est de savoir quelle marge on a entre quelque chose sans effet néfaste et quelque chose de subi comme exposition.

Si ce rapport est égal à 1, le risque subi est proche de la limite de ce qui ne fait pas d'effet. En revanche, si ce rapport est plus grand que 1 il faut commencer à se faire du souci. Notons que ce rapport n'est pas équivalent à une mesure absolue du risque. On ne connaît pas le risque réel de substances pour lesquelles la valeur PEC excède la valeur PNEC. On sait seulement que la probabilité d'effets néfastes augmente quand le rapport PEC/PNEC augmente. Ce quotient est une information substitutive du risque, mais internationalement acceptée comme telle.

Au stade actuel des connaissances, nous ne pouvons pas adéquatement prédire les effets néfastes sur les écosystèmes, ni le degré avec lequel les populations humaines seront affectées.

Si on ne dispose pas d'assez de données, on peut évaluer les risques de manière relative, quoique d'une manière assez générale et simplifiée (« relative risk ranking »). Pour cela, on compare des substances chimiques ou des groupes de substances une fois effectuée l'évaluation respective de ces différentes substances d'une manière « semblablement simplifiée ». Cela peut servir mais demande une certaine attention, parce que le comportement d'une substance n'implique pas d'office un même comportement pour toutes les substances du même groupe.

Des modèles peuvent également aider à travailler sur la caractérisation du risque.

Malgré ces lacunes, l'estimation de gradient de risque permet d'aborder des questions telles que le remplacement de processus, de techniques ou de substances dangereuses par d'autres plus sûres dans la phase de l'aménagement des risques, et ce, même sans connaître le risque précis encouru. Si le rapport PEC/PNEC est grand, il faut proposer des mesures pour essayer de diminuer les risques. Ces mesures peuvent aller jusqu'au bannissement d'une substance.

III.2. Exemples d'intoxications

Une **intoxication** est un ensemble de troubles du fonctionnement de l'organisme dus à l'absorption d'une substance étrangère, dite toxique.

L'absorption du toxique peut se faire

- par inhalation (aspiration, respiration d'un aérosol (gaz ou vapeur, brouillard, fumée) ou de poussières).
- par ingestion (boire, manger).
- par contact cutané (soit effraction cutanée par plaie ou brûlure, soit par diffusion à travers le derme et l'épiderme).
- par injection directe dans le sang (voie parentérale, autrement dit tout ce qui est piqûre ou cathéter).

III.2.1. intoxications aiguës

C'est l'ensemble des manifestations pathologiques consécutives à une exposition unique de courte durée (24-48h) à une substance toxique (produits chimiques, médicaments, drogues,...) qui se comporte comme un poison dans l'organisme et provoque des dommages biologiques graves ou mortels. Elle nécessite une prise en charge médicale correcte afin de rétablir les fonctions vitales.

Exemples : CO, produits ménagers, aliments, végétaux, produits chimiques et agricoles, produits ménagers, gaz,...)

III.2.2. Intoxication chronique

Elle résulte de l'exposition prolongée (plusieurs mois ou années) à de faibles doses d'un toxique entraînant ainsi des lésions insidieuses apparaissant à long terme, réversibles ou non et qui sont dues à l'accumulation du toxique ou de son effet. Dans certaines situations, l'exposition brève à un toxique peut entraîner des effets immédiats et chroniques (inhalation d'un acide qui provoque une irritation voire même un asthme).

III.2.3. Poly-intoxication c'est l'intoxication aiguë ou chronique par plusieurs toxiques à la fois.

III.2.4. Epidémiologie des intoxications

Tous les calculs d'incidence des intoxications ne peuvent que sous-estimer la réalité et ce en raison de l'absence de déclarations systématiques de tels événements.

En Algérie : Les intoxications aiguës médicamenteuses sont la première cause d'admission dans les services d'urgence et de réanimation en Algérie (Ettaieb Errahmani, 2014). La figure ci dessous montre l'évolution du nombre des intoxications aiguës enregistrées au niveau du centre antipoison (CAP) d'Alger de 2009 à 2014.

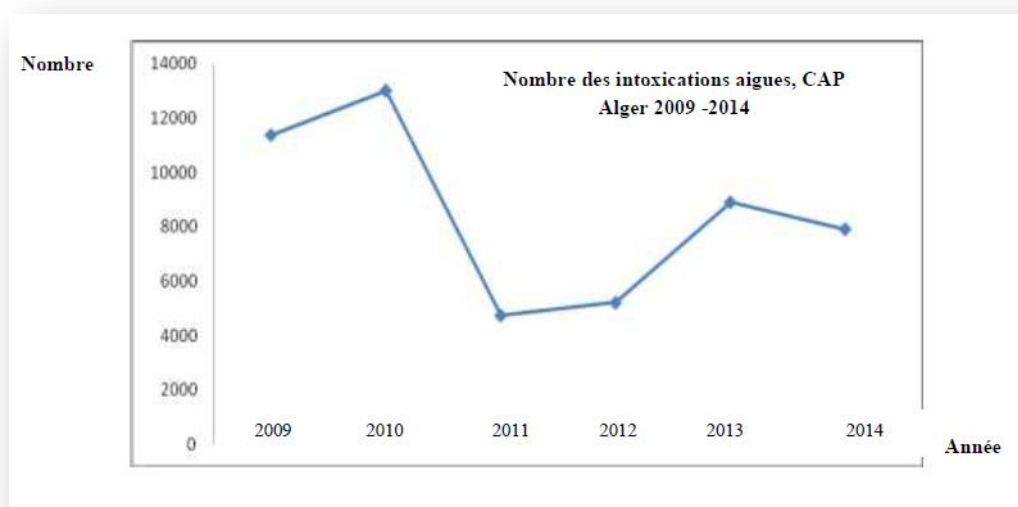


Figure 22 : *Nombre des intoxications aiguës enregistrées par le CAP Alger de 2009 à 2014 (Ettaieb Errahmani, 2014).*