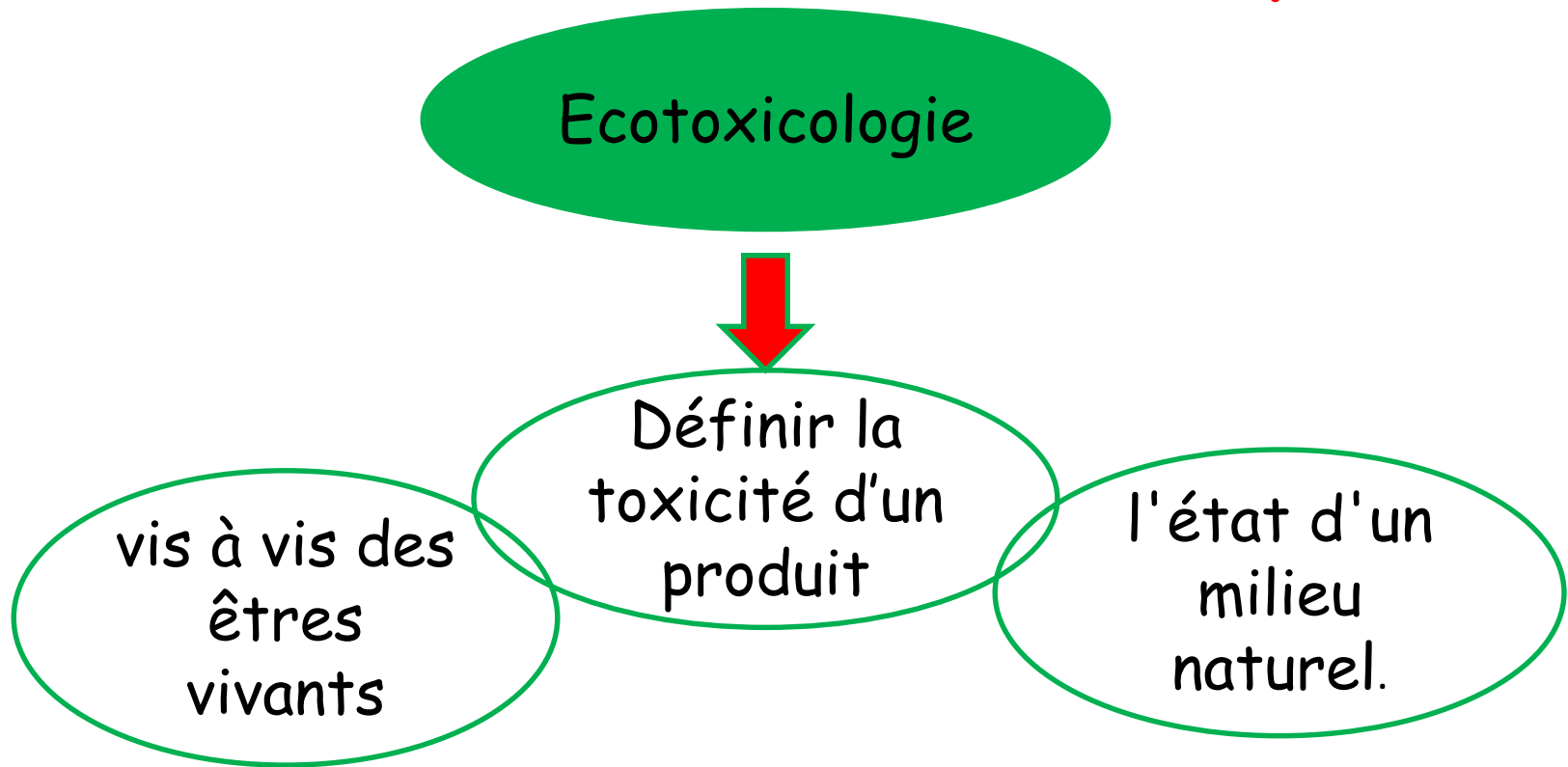


LES TESTS ÉCOTOXICOLOGIQUES

I- Evaluation de la toxicité des polluants



Ex:

- tests écotoxicologiques de laboratoire (bioessais) tels que l'essai daphnie.
- tests in situ (à l'état de développement) sont appliqués que par les laboratoires de recherche.

1. Les espèces sentinelles ou les bioindicateurs

Les espèces sentinelles sont des organismes choisis comme **modèles d'étude** afin d'étudier:

- **l'effet** ou le **comportement** d'un ou de plusieurs composés (ou d'une pollution)
- mettre au point une **méthode de détection** d'une pollution.



Ce sont donc des espèces couramment utilisées lors de tests écotoxicologiques en raison d'un certain nombre de caractéristiques :

- facilité de manipulation
- facilité d'élevage en laboratoire,
- sensibilité à certains types de polluants (comme les perturbateurs endocriniens),
- représentativité d'une famille d'êtres vivants (les poissons, les mollusques, etc.).

Ex:

-organismes aquatiques : la daphnie, le poisson zèbre, l'algue d'eau douce, etc.

-organismes terrestres : le ver de terre, l'abeille, etc.

2. Les bioessais

Les bioessais ont pour but:

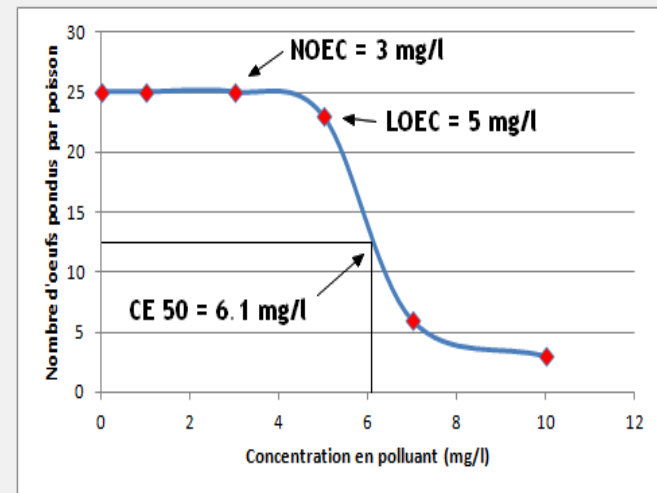
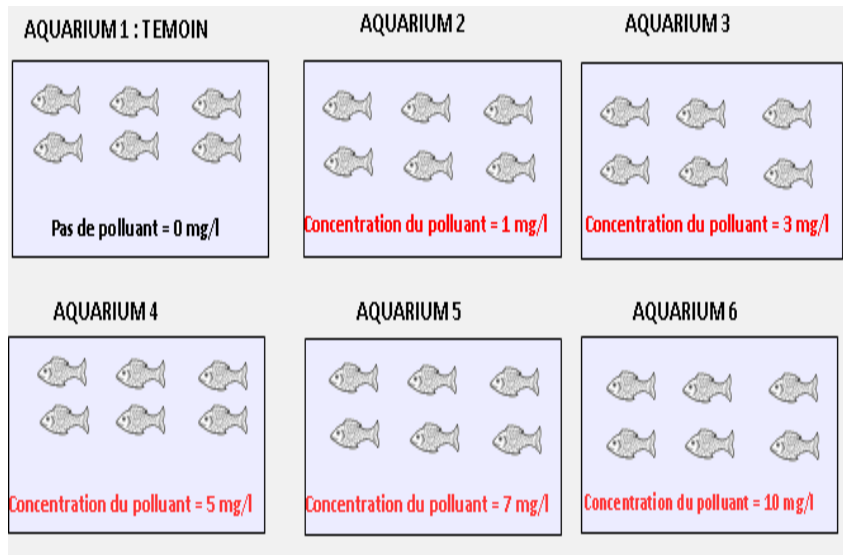
- **d'évaluer la dangerosité d'une ou plusieurs substances** : c'est peut être un **polluant** que l'on trouve dans les **milieux naturels** (ex : un pesticide) ou un **nouveau produit** industriel dont on souhaite connaître **les effets** potentiels sur **l'environnement** (ex : un conservateur de produits cosmétiques)
- **d'évaluer la qualité d'un milieu** : par exemple, si un **sol** a été **pollué aux métaux lourds** à cause d'une usine, on souhaite savoir si la **pollution de ce sol** est **dangereuse** pour **la faune qui y vit** (vers de terre etc.)
- **de comprendre les mécanismes d'action d'un polluant** : étude de la **bioaccumulation d'une substance** (= faculté à s'accumuler dans les tissus d'un organisme), compréhension des **phénomène de toxicité du polluant**, etc.

➤ Quel est l'avantage d'un bioessai par rapport à une analyse chimique classique ?

Exemple:

- Une analyse chimique , elle pourra dire qu'une rivière a une teneur de $0.2\mu\text{g/l}$ en DDT. Par contre, elle ne pourra pas dire si le DDT est biodisponible, c'est-à-dire, s'il est assimilable par les organismes vivants, et si ce polluant peut les affecter.
- en réalisant un « test daphnie » (bioessai), on met en contact un échantillon de l'eau de la rivière avec des organismes et on observe la toxicité sur le crustacé (évalué l'effet).

a. Notion essentielle d'un teste écotoxicologique d'un labo (cf chapitre I partie :Expérience visant à évaluer les effets d'un polluant sur une espèce de poissons)



♦ **Points expérimentaux** : obtenus grâce au comptage du nombre d'oeufs dans les différents aquariums

NOEC : No Observed Effect Concentration : c'est la plus forte concentration pour laquelle aucun effet n'a été observé. Ici, on n'a observé aucune diminution du nombre d'oeufs pondus par rapport au témoin.

LOEC : Low Observed Effect Concentration : c'est la plus faible concentration pour laquelle on a observé un effet. Ici, on observe qu'à 5 mg/l de polluant, le nombre d'oeufs a diminué par rapport aux concentrations inférieures et au témoin.

CE₅₀ : Concentration Effective 50% : c'est la concentration qui induit 50% d'effet. Cette CE₅₀ est déterminée grâce à la courbe tracée d'après les points expérimentaux. Ici, l'effet de 50% correspond à une diminution de 50% du nombre d'oeufs pondus : le nombre d'oeufs pondus dans l'aquarium témoin étant de 25, une diminution de 50% correspond à une diminution de 12,5 oeufs. Cette valeur de 12,5 oeufs pondus correspond à une concentration théorique en polluants de 6,1 mg/l : c'est la CE₅₀ dans cette expérience.

b. Tests écotoxicologiques classiques

D'après un livre de Calow de 1993, un bon test écotoxicologique doit **respecter la règle des 5R** (en anglais) :

- **Relevance** : ce qui signifie **représentativité**. L'**organisme** vivant choisi pour le **test** doit être **représentatif du milieu évalué** : ex un **ver de terre** représente bien les **organismes du sol** puisqu'il est très présent et très important dans la « **vie d'un sol** »
- **Reliability** : **fiabilité**. Une **méthode fiable** peut être **utilisée** à n'importe quel moment.
- **Repeatability** : **répétabilité**. Lorsque le **test est répété**, il doit donner des **résultats qui varient peu**.
- **Reproducibility** : **reproductibilité**. Si différents laboratoires à travers le monde réalisent le test sur une **même substance**, ils doivent trouver des **résultats voisins**.
- **Robustness** : **robustesse**. Une méthode **robuste** est susceptible d'être **utilisée** par n'importe quel **technicien** moyennement **entraîné** ou **formé**.

Il existe **différentes** catégories de **tests**, permettant d'évaluer la **toxicité** des polluants vis à vis des **différents** **compartiments des écosystèmes**:

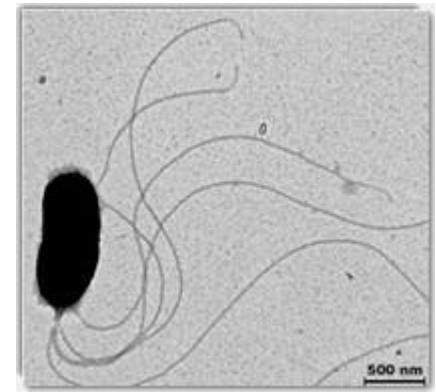
- **Bioessais aquatiques :**

- Essais de toxicité aigüe (toxicité à court terme):

- ✓ **Essai de mobilité de daphnie**

Ce test permet de déterminer la **concentration** du produit **testé qui, en 24 h, immobilise 50 % des daphnies** (*Daphnia magna*) mises en expérimentation.

✓ test microtox,

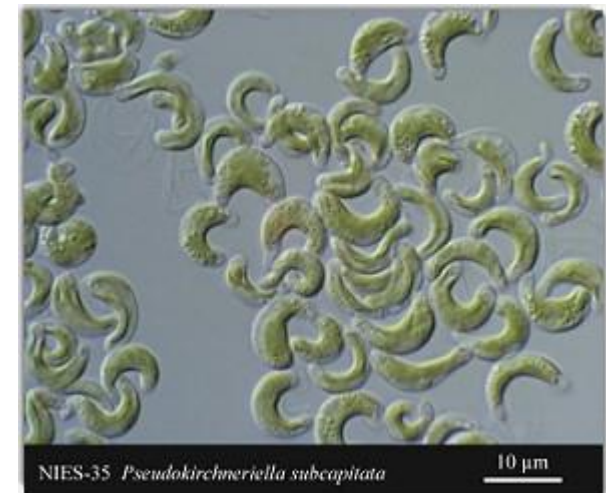


la bactérie marine utilisée dans ce test (*Vibrio fischeri*), émet **naturellement des photons** (= lumière). En présence de **toxiques**, son **métabolisme** (=ensemble des dépenses énergétiques) est **affecté**, ce qui se traduit par une **chute de sa luminescence** (émission lumineuse). En utilisant cette propriété, ce test permet donc de déterminer la **concentration du produit testé qui diminue de 50 % le métabolisme de la bactérie étudiée (CI 50)**.

- Essais de toxicité chronique (toxicité à long terme) :

✓ test algues

Ce test consiste à mesurer la croissance (sous microscope) de l'algue d'eau douce **Pseudokirchneriella subcapitata** après **72h** d'exposition au produit ou au prélèvement d'eau testé : certains composés auront pour effet d'inhiber la croissance de l'algue, révélant ainsi leur toxicité vis à vis des végétaux aquatiques.



• Essais d'écotoxicité terrestre :

✓ test vers de terre



Il existe deux tests vers de terre :

- **évalue la toxicité aigüe (court terme)** on évalue la **mortalité** de vers de terre exposés, pendant 14 jours, à un **sol pollué** : on déterminera la **concentration létale pour 50 % des individus (CL50)**
- **évalue la toxicité chronique (long terme)**. on détermine les **effets à long terme** (4 à 8 semaines) de **polluants** sur la **reproduction des organismes** : on s'intéressera à la **concentration sans effet** sur la reproduction (NOEC). Pour ces **deux tests**, on utilisera l'espèce **de vers de terre Eisenia fetida**.

✓ test végétaux

Différents tests permettent d'évaluer la toxicité de polluants présents dans le sol sur la germination, la croissance ou l'élongation racinaire de végétaux

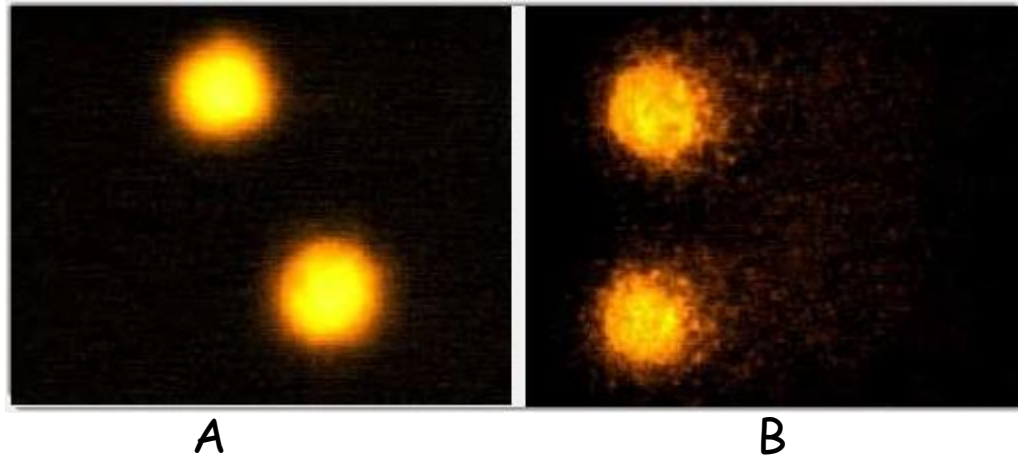


- Essais de génotoxicité/cancérogénécité

Ces tests évaluent la toxicité de polluants sur l'ADN (génotoxicité) et leur faculté à induire un cancer chez un organisme (cancérogénécité).

✓ essais des comètes

L'essai des comètes permet de mesurer les **cassures de l'ADN** induites par un **polluant** (agent génotoxique). Après application d'une technique particulière appelée **électrophorèse**, les noyaux dont **l'ADN a subi des cassures** (dus à un polluant) prennent une **forme de comète** alors que les noyaux dont **l'ADN n'est pas endommagé restent ronds**



A: noyaux d'ADN sans cassure (témoin)

B: noyau avec cassure (queue de la comète (exposé à un produit génotoxique))

3. Les tests in situ



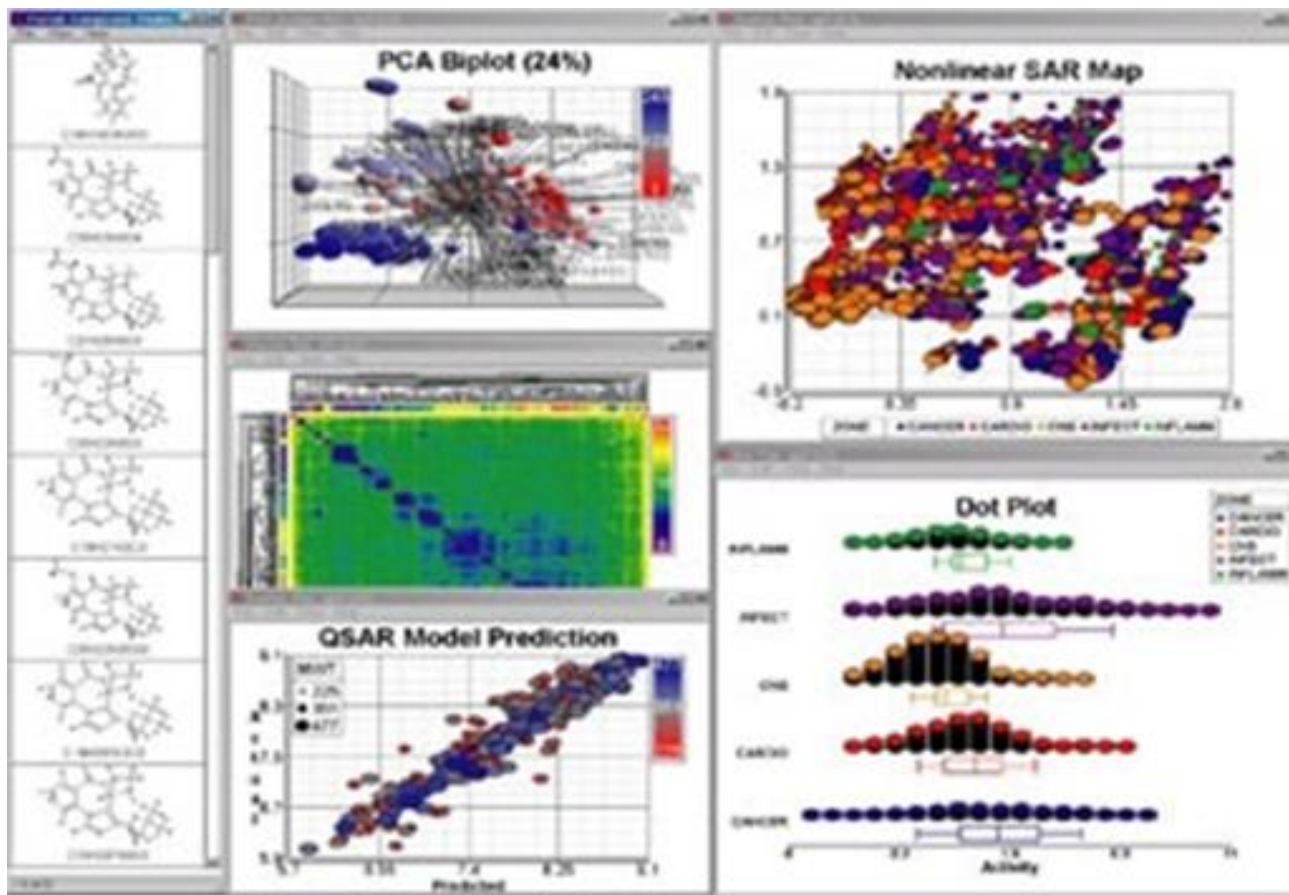
Les **tests in situ** sont des tests **effectués sur le terrain**, c'est à dire sur le **site** que l'on veut **analyser** ou **étudier**. Ils ont l'avantage d'être **plus réalistes** que les **tests de laboratoire** puisqu'ils sont soumis à l'ensemble des **facteurs environnementaux**; **ex:** d'évaluer la qualité d'une rivière et de détecter les effets d'une pollution sur les organismes d'un cours d'eau

Ils sont en revanche bien **plus difficiles** à mettre en place et **à standardiser** :

- il est **compliquer d'établir** un **protocole précis** de ces tests (scientifiques travaillent pour l'instant "au **cas par cas** »).
- cette **standardisation est indispensable** pour pouvoir comparer les résultats de ces tests entre laboratoires.
- Ces tests sont donc encore aujourd'hui à **l'état de développement**. Cependant, on peut s'attendre à ce qu'ils soient de **plus en plus utilisés à l'avenir** en tant qu'outil de **contrôle de la qualité des milieux naturels**.

4. Modélisation

En écotoxicologie, il existe des méthodes permettant de **prédire l'effet ou le comportement d'une molécule** sans expérimentations : il s'agit des **modèles**. Ces modèles ont l'avantage d'**économiser** du matériel **vivant** (pas d'animaux ou de végétaux nécessaires), du **temps** et de l'**argent**.



Exemple: **QSAR** (Quantitative structure-activity relationship), permettant de **prédire** l'**effet** ou le **comportement** d'une molécule d'après sa **structure chimique**.

II- Méthodes d'évaluations du risque

Démarche d'évaluation du risque écotoxicologique

Causes

1 Source
(inventaire)

2 Cheminement
(mesures chimique)

Effets

3 Toxicité
(bioessais)

4 Danger
(problématiques)

Évaluation

5 Exposition
(bioindicateur
et ou calculs)

6 Risque
(estimations)



RISQUE ENVIRONNEMENTAL = TOXICITE DE LA SUBSTANCE x EXPOSITION

Les **directives européennes** définissent la méthode d'évaluation de ce risque environnemental. qui consiste, pour **chaque substance potentiellement dangereuse pour l'environnement**, à définir:

- une **PNEC (Prédicated No Effect Concentration)**: c'est la **plus forte concentration** de la **substance sans risque pour l'environnement**.
- une **PEC (Prédicated Environmental Concentration)**: c'est la **concentration prévisible** de la **substance** dans **l'environnement**.

✓ Comment définir une concentration sans risque pour l'environnement (PNEC)?

Pour déterminer la **PNEC** à partir de résultats de tests de laboratoire, on doit appliquer les règles suivantes:

- **on utilise en priorité les résultats des tests de toxicité chronique:** en effet ces tests évaluent les **effets à long terme** de la **substance** sur les **organismes vivants**. On s'intéresse ici à la **NOEC**, la plus forte concentration testée à laquelle aucun effet sur l'organisme vivant n'a été observé. Par défaut de valeurs de toxicité chronique, on utilise la valeur de **CL50** (Concentration tuant 50% des individus testés).
- **on utilise la NOEC la plus faible (ou par défaut la CL50 la plus faible):** la sensibilité de l'écosystème dépend des espèces les plus **sensibles aux polluants**. Or, la NOEC (ou la CL50) la plus faible correspond à **l'organisme le plus sensible**.
- **on applique un facteur de sécurité à la NOEC ou à la CL50 retenue:** ce facteur, permet **d'abaisser le risque**. Il tient compte du nombre et de la **qualité des données disponibles**.

Organisme testé	Test de toxicité aigüe (à court terme)	Test de toxicité chronique (à long terme)
	CL ₅₀ (mg/l)	NOEC (mg/l)
Poissons	0,56	Pas de résultat disponible
Daphnies	0,22	Pas de résultat disponible
Algues	0,89	Pas de résultat disponible
Bactéries	Pas de résultat disponible	Pas de résultat disponible

Résultats de tests de laboratoire pour détermination d'une PNEC: seuls des résultats de toxicité aigüe sont disponibles

$$PNEC = 0,22 \text{ mg/l} / 1000 = 0,00022 \text{ mg/l} = 0,22 \text{ } \mu\text{g/l}$$

1000 = facteur de sécurité (défini dans les directives européennes)

Organisme testé	Test de toxicité aigüe (à court terme)	Test de toxicité chronique (à long terme)
	CL ₅₀ (mg/l)	NOEC (mg/l)
Poissons	0,56	0,16
Daphnies	0,22	0,08
Algues	0,89	2
Bactéries	Pas de résultat disponible	10

Résultats de tests de laboratoire pour détermination d'une PNEC: des résultats de toxicité chroniques sont disponibles

$$PNEC = 0,08 \text{ mg/l} / 10 = 0,008 \text{ mg/l} = 8 \text{ } \mu\text{g/l}$$

facteur de sécurité = 10

✓ Comment prédire la concentration de la substance dans l'environnement (PEC)?

Cette **PEC** permet de prévoir la concentration de la substance dans les différents compartiments de l'environnement: air, eau, sédiment, sol. Elle est définie selon plusieurs paramètres:

- **son tonnage et son utilisation**: une substance produite à **plusieurs dizaines de milliers de tonnes par an** (comme le bisphénol A), pourra, selon son utilisation, se retrouver en **grande quantité dans l'environnement**. Si cette substance est rejetée via les eaux usées, elle aura donc une PEC élevée dans l'eau.
- **son comportement dans l'environnement**: par exemple si elle est plus ou moins **biodégradable**.
- **ses propriétés physico-chimiques**: sa **volatilité** (dans l'air), **sa solubilité** (dans l'eau), son **poids moléculaire**

✓ Comment prédire le risque d'une substance grâce aux valeurs de PEC et de PNEC ?

La **comparaison** des valeurs de **PEC** et de **PNEC** permettent de tirer une **conclusion** quant au **risque** que représente une substance pour l'**environnement**.

Exemple: concentration prévisible de la substance (PEC) est de $2 \mu\text{g/l}$:

- la concentration sans effet (PNEC) est de $0,22 \mu\text{g/l}$,
donc **$\text{PEC} > \text{PNEC}$** → il y a un **risque** pour l'environnement
- la concentration sans effet (PNEC) est de $8 \mu\text{g/l}$,
donc **$\text{PEC} < \text{PNEC}$** . → **risque est acceptable** pour l'environnement, même si la **vigilance est nécessaire**



FIN