

Publication du 1^{er} outil national de sélection des couples espèce/biomarqueur pour le suivi de la qualité des milieux aquatiques : enjeux & perspectives pour la communauté Ecotox



Le projet Biomarqueurs & Biodiversité : contexte et bilan

Réalisé entre 2017 et 2020 dans le cadre de l'appel à manifestations d'intérêt « Besoins de développements en appui à la surveillance et à l'évaluation de l'état des eaux et des milieux aquatiques » de l'OFB, le projet Biomarqueurs et Biodiversité (B&B) a eu pour objet :

- 1- De répertorier les couples espèce/biomarqueur disponibles sur le territoire national ;
- 2- D'évaluer la pertinence de l'utilisation des biomarqueurs pour la surveillance opérationnelle des masses d'eau continentales, côtières et de transition dans le contexte de la Directive Cadre sur l'Eau (DCE).

La Fondation ROVALTAIN a coordonné ce projet, en s'appuyant sur des partenaires et experts issus des organismes suivants : l'INRAE, l'UMR-I 2-SEBIO, le LIENS, l'EA MMS, l'UMR LEMAR, et le GIP Seine-Aval. Un travail d'enquête approfondi auprès de 15 laboratoires de recherche français a ainsi permis de référencer 331 couples espèce/biomarqueur, de les évaluer selon leur maturité opérationnelle et de caractériser leurs limites, leur spécificité et leur pertinence écologique dans un objectif de surveillance réglementaire des milieux aquatiques.

A émergé de ce travail une base de données (BMK) recensant les couples espèce/biomarqueur utilisables dans 4 contextes d'application différents : surveillance générale, qualité du rejet, impact du rejet sur le milieu, diagnostic control enquête ; et pour 3 types de masses d'eau : continentale, de transition, côtière. Un aperçu de l'utilisation de cette base de données est présenté en Annexe 1. Cet outil opérationnel est accompagné d'un guide pratique destiné aux utilisateurs.

Basée sur l'analyse de l'état chimique (45 molécules) et de l'état écologique des masses d'eau, la DCE prend peu en compte l'état biologique et physiologique des espèces animales et végétales présentes au sein de l'écosystème aquatique : des paramètres qui pourraient pourtant améliorer la description de l'état des milieux. Face à ce constat, de nombreux écotoxicologues œuvrent en faveur de l'intégration des biomarqueurs et des bio-essais dans ce cadre réglementaire, à l'image de ce qui est déjà réalisé dans la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM). Afin d'évaluer les manques essentiels de la DCE, un consortium européen s'est également constitué et a mis en avant l'intérêt d'utiliser des méthodes innovantes de surveillance biologique, complémentaires à l'analyse

chimique, appelées « Effect-based Methods » (EBMs), ou méthodes basées sur les effets (Wernersson *et al.*, 2015). Ces EBMs, qui regroupent les biomarqueurs et les bio-essais, sont proposées en complément des analyses chimiques et écologiques.

Dans ce contexte, les biomarqueurs sont donc de véritables outils de détermination de l'état de santé des organismes aquatiques, à la fois pour la surveillance générale, mais aussi lors d'un incident isolé de pollution. Une réflexion autour de l'utilisation de ces outils dans le cadre réglementaire de la DCE a ainsi fait l'objet d'un premier article (Milinkovitch *et al.*, 2019).

La pertinence et l'opérationnalité des couples espèce/biomarqueur au sein des quatre cadres d'études mentionnés précédemment ont fait l'objet d'un classement en fonction de 10 critères d'évaluation, comme l'existence d'une relation dose/réponse, l'existence de valeurs de base et de valeurs seuil ou encore des considérations technico-économiques.

Le projet B&B a permis de mettre en avant l'expertise française sur les biomarqueurs en écotoxicologie aquatique et de faire émerger la base de données BMK recensant les couples espèce/biomarqueur disponibles pour la biosurveillance aquatique. C'est le premier outil d'aide à la décision de cette envergure disponible en France.

Une base de données des couples espèce/biomarqueur disponibles en fonction du cadre d'étude : pour qui ? Pour quoi faire ?

La base de données BMK a permis dans un premier temps de faire un état des lieux des biomarqueurs actuellement disponibles en France, et de rassembler la communauté autour de ce sujet. Cette base de données est la plus exhaustive réalisée à ce jour en France et a pour fonction (i) d'éclairer les gestionnaires de l'environnement sur le potentiel de ces outils dans un contexte opérationnel et (ii) d'accompagner et nourrir les thématiques de recherche en cours. Ainsi, les étudiants, chercheurs ou gestionnaires de l'eau souhaitant en savoir plus sur la possible utilisation d'un couple espèce/biomarqueur et son degré de maturité opérationnelle peuvent trouver les informations nécessaires (contacts, chercheurs...) sur le Guide Pratique associé à la BMK. Ce guide accompagne les utilisateurs dans la prise en main de cet outil et apporte des précisions sur les critères de sélection des couples espèce/biomarqueur ainsi que sur leur pertinence en fonction du contexte de l'étude, e.g. méthode active ou passive.

Quelle stratégie pour l'intégration des couples espèce/biomarqueur dans un cadre réglementaire ? Au niveau national ? Au niveau européen ?

En juin 2020, après un examen approfondi, la commission européenne a finalement décidé de ne pas procéder à la révision de La DCE et de ne pas modifier les critères et méthodes d'évaluation en place. Le point positif de cette décision est que le texte ne sera pas affaibli. En revanche, l'intégration d'outils de biosurveillance aquatique tels que les biomarqueurs n'a pas été validée et la décision remise à la prochaine date de révision.

Ce délai pourra permettre d'affiner l'utilisation de ces biomarqueurs et de relever les défis qu'elle représente afin de s'insérer dans un cadre réglementaire, notamment :

- Définir de façon précise, une batterie de marqueurs capables de couvrir toutes les classes de produits chimiques qui peuvent affecter l'homéostasie des espèces aquatiques ;

- Mettre en place des indicateurs (de type Effect-Based Treshold « EBT ») permettant de définir des valeurs de base et des valeurs seuils, afin de différencier une qualité d'eau acceptable d'une qualité d'eau médiocre.

En termes de stratégies de déploiement, l'inventaire des couples espèce/biomarqueur réalisé grâce à ce projet pourrait ainsi être un premier pas vers la mise en place de protocoles de surveillance cadrés impliquant les différents acteurs de l'eau à un niveau national, au premier rang desquels les agences et gestionnaires de l'eau. Pour cela, il est nécessaire d'identifier des sites pilotes et travailler de concert avec les acteurs de l'eau, afin de lever les interrogations sur le mode d'application, la pertinence des biomarqueurs (valeurs de base, valeurs seuils ...) et leurs apports pour la définition d'actions. En France, on dénombre déjà plusieurs exemples de déploiement de ces couples espèce/biomarqueur pour la biosurveillance des masses d'eau. Parmi eux, le projet BIOSURVEILLANCE¹ (2019 - 2022), un projet pilote coordonné par le GIP Seine-Aval et basé sur l'utilisation de biomarqueurs pour un appui à la surveillance de la qualité de différents types de masses d'eau du district Seine-Normandie, en concertation avec l'agence de l'eau Seine-Normandie. Plus précisément, des biomarqueurs de génotoxicité et d'immunotoxicité sont mesurés sur organismes encagés, représentatifs de différents milieux (eaux douce, de transition, et marin côtier) et de différents groupes taxonomiques de sensibilités différentes aux contaminants chimiques (crustacés, bivalves et poissons).

Il apparait donc à la fois nécessaire de présenter des exemples de suivi fonctionnels et de mettre en place des groupes de travail, pilotés par les gestionnaires et accompagnés par les chercheurs, afin de définir des « protocoles types » concrets, adaptés et transférables, à l'image du projet SASHIMI², en cours de réalisation dans le bassin Seine-Normandie.

Enfin, en parallèle du projet B&B, un autre groupe de travail a été réuni par l'OFB et l'INERIS dans le cadre du partenariat avec le consortium AQUAREF³ afin de lister les bio-essais disponibles sur le territoire national. Les résultats de ce groupe de travail, complémentaires à ceux du projet B&B, seront publiés courant 2021, et la mise en commun de ces deux études constituera une base de travail solide. Déjà amorcée, la réflexion autour du déploiement de méthodes intégratives permettant de combiner plusieurs bio-essais ou plusieurs biomarqueurs pour la biosurveillance des milieux aquatiques est plus que jamais d'actualité. Le concept des EBM (Wernersson *et al.*, 2015) a permis d'esquisser des réflexions et des recommandations par des groupes de travail au niveau européen sur leur intégration au niveau de la DCE ou dans des contextes d'études locales ou de monitoring spécifique. Parmi ces groupes de travail, le projet collaboratif SOLUTIONS⁴ recommande l'utilisation d'EBMs intégratives pour le diagnostic et la biosurveillance de la qualité du milieu aquatique, avec le déploiement d'une batterie minimum de bio-essais *in vitro* et *in vivo* (Brack *et al.*, 2019).

¹ <https://www.seine-aval.fr/projet/biosurveillance/>

² <https://www.seine-aval.fr/projet/sashimi/> Projet de Surveillance Active de l'impact de la pression chimique par des biomarqueurs (SASHIMI)

³ AQUAREF, laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques, est né de la nécessité de renforcer l'expertise française dans le domaine de la surveillance des milieux aquatiques à partir de la mise en réseau des compétences et des capacités de recherche des cinq établissements publics directement concernés: BRGM, IFREMER, INERIS, INRAE, LNE.

⁴ <https://www.solutions-project.eu/> SOLUTIONS recherche des outils, méthodes et modèles nouveaux et performants pour soutenir les décisions en matière de politiques environnementales et de l'eau

Concernant plus spécifiquement les biomarqueurs, une réflexion autour des nouvelles méthodes intégratives permettant d'avoir en sortie une réponse biologique lisible par les gestionnaires et les décisionnaires est nécessaire. A ce sujet, un deuxième article ayant pour objet la comparaison et l'analyse critique de ces différentes méthodes est en cours de rédaction par les partenaires du projet B&B et la Fondation Rovaltain.

Quelle évolution pour la base de données des couples espèce/biomarqueur ? Faire vivre/évoluer la base de données ?

La base de données Biomarqueurs & Biodiversité recense les couples espèce/biomarqueur disponibles pour contribuer à évaluer la qualité des masses d'eau à un instant précis. Bien que cette base de données soit le 1^{er} outil de cette envergure créé pour la biosurveillance des écosystèmes aquatiques en France, il n'est pas exhaustif. En effet, de nouveaux couples espèce/biomarqueur ont pu être développés depuis la publication de cette base de données. Par ailleurs, parmi les couples espèce/biomarqueur sélectionnés, la maturité de certains a pu évoluer entre la publication de la base de données et la rédaction de cette tribune.

Il apparaît donc nécessaire de faire évoluer cet outil, dans le but d'intégrer de nouveaux couples espèce/biomarqueur, mais également afin de prendre en compte la modulation de certains paramètres, comme le degré de maturité opérationnelle, les valeurs de base/seuils ou encore un changement de protocole permettant de faciliter l'utilisation d'un biomarqueur.

Plusieurs solutions sont à l'étude :

- La mise à jour annuelle sur le site web du projet par la Fondation Rovaltain, avec l'appui des partenaires ayant contribué à la création de la base de données, après validation par un comité scientifique ;
- Une journée annuelle organisée à la Fondation Rovaltain dédiée aux biomarqueurs et permettant de faire remonter les informations principales sur les nouveaux biomarqueurs.

Comment fédérer la communauté Ecotox autour de l'outil de sélection des couples Espèce/Biomarqueur au niveau national ?

Le projet B&B et la création de la base de données BMK et du Guide Pratique associé constituent une opportunité de fédérer la communauté Ecotox autour du sujet transverse des biomarqueurs. Pour faire suite à ce projet, et en coordination avec les résultats du groupe de travail bio-essais, des formations sur l'utilisation des biomarqueurs et des bio-essais en fonction des différents cadre d'étude pourraient être mises en place/organisées par la Fondation Rovaltain. Il pourrait ainsi être envisagé une école d'été/d'hiver dédiée à l'apprentissage de l'utilisation des biomarqueurs et des bio-essais.

Contacts

Damien Baudiffier, Fondation Rovaltain
d.baudiffier@fcsrovaltain.org

Delphine Delaunay, Fondation Rovaltain
d.delaunay@fcsrovaltain.org

Remerciements : la Fondation Rovaltain remercie Olivier Perceval (OFB), Cédric Fisson (GIP Seine-Aval) et Wilfried Sanchez (IFREMER) pour la relecture de ce document.

Pour en savoir plus et obtenir la Base de Données BMK & le Guide Pratique

<https://sites.google.com/view/biomarqueur-et-biodiversite/accueil>

Bibliographie citée

Brack, W., Aissa, S.A., Backhaus, T. et al., 2019. Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. Environ. Sci. Eur. 31, 10.

Milinkovitch T, Geffard O, Geffard A, Mouneyrac C, Chaumot A, Xuereb B, Fisson C, Minier C, Auffret M, Perceval O, Egea E, Sanchez W., 2019. Biomarkers as tools for monitoring within the Water Framework Directive context: concept, opinions

and advancement of expertise. Environ Sci. Pollut. Res. Int. 26(32), 32759-32763.

Wernersson, A.-S., Carere, M., Maggi, C., Tusil, P., Soldan, P., James, A., Sanchez, W., Dulio, V., Broeg, K., Reifferscheid, G., Buchinger, S., Maas, H., Van Der Grinten, E., O'Toole, S., Ausili, A., Manfra, L., Marziali, L., Polesello, S., Lacchetti, I., ... Kase, R., 2015. The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. Environ. Sci. Eur, 27(1), 7.

Annexe 1. Exemple d'utilisation de la Base de données BMK : Rang de maturité opérationnelle des couple espèce/biomarqueur en fonction du Cadre d'étude (entouré en rouge, dans l'exemple, la surveillance générale) et du milieu (entouré en vert, dans l'exemple, tout milieu confondu)

Espèce	Biomarqueur	MILIEU	Labo	Rang	Critère 1			Critère 2			Critère 3	
					Relation dose / réponse			Robustesse /Caractérisation des facteurs confondants (intrinsèque et environnemental)			Connaissance des conséquences sur les niveaux d'organisation supérieure	
					relation dose/réponse connue, profil de réponse MONOTONE (inhibition ou induction)	relation dose/réponse connue, profil de réponse NON MONOTONE (induction-inhibition)	relation dose/réponse non connue	Effets des facteurs confondants connus et il est possible de les	Effets des facteurs confondants connus mais non pris en compte dans l'interprétation	pas de connaissance de l'effet des facteurs confondants	Ce biomarqueur a un lien connu avec un trait de vie? survie, repro, croissance,	N'a pas de lien établi avec trait de vie
4	Gammarus fossarum	mue	Continental	RIVERLY	1	X			X		X	
5	Mytilus edulis	ACHE	Transition / Côtier	LEX	2	X			X		X	
6	Mytilus edulis	ACHE	Transition	LEX	3	X			X		X	
7	Gammarus fossarum	taux d'alimentation	Continental	RIVERLY	4		X		X		X	
8	Gammarus fossarum	comet sur spermatozoide	Continental	RIVERLY	5	X		X			X	
9	Crassostrea gigas	Laccase	Transition / Côtier	LIENSs	6	X			X		X	
10	Gammarus fossarum	Trypsine	Continental	SEBIO	7			X		X		X
11	Gammarus fossarum	Amylase	Continental	SEBIO	8			X		X		X
12	Gammarus fossarum	ACHE	Continental	RIVERLY	9	X			X		X	
13	Palaemon longirostris	comet sur spermatozoide	Transition	SEBIO	10	X			X		X	X
14	Oncorhynchus mykiss	test des micronoyaux	Continental	EPOC	11	X			X		X	
15	Dreissena polymorpha	Amylase	Continental	SEBIO	12			X		X		X
16	Gammarus pulex	pression osmotique sg	Continental	MARBEC	13	X			X		X	X
17	Gammarus fossarum	pression osmotique sg	Continental	MARBEC	14	X			X		X	X
18	Oncorhynchus mykiss	Tbars	Continental	EPOC	15	X			X		X	X
19	Oncorhynchus mykiss	protéines carbonylées	Continental	EPOC	16	X			X		X	X
20	Gasterosteus aculeatus	phagocytose	Continental	SEBIO	17		X		X		X	
21	Dreissena polymorpha	Phosphatase acide	Continental	SEBIO	18			X		X		X
22	Dreissena polymorpha	LDH	Continental	SEBIO	19			X		X		X
23	Dreissena polymorpha	Election transport system	Continental	SEBIO	20			X		X		X
24	Dreissena polymorpha	LDH	Continental	LEEC	21			X		X		X
25	Gasterosteus aculeatus	ACHE	Continental	SEBIO	22		X		X		X	X
26	Gasterosteus aculeatus	Fluimée oxydative	Continental	SEBIO	23		X		X		X	X
27	Gasterosteus aculeatus	Distribution leucocytaire	Continental	SEBIO	24		X		X		X	X
28	Gasterosteus aculeatus	SEBIO	Continental	SEBIO	25		X		X		X	X