

BIOSURVEILLANCE MARINE

MARINE BIOMONITORING

ABADA Bachira & **SAIDI** Amina. Centre de Développement des Energies Renouvelables (CDER). B.P 62 route de l'observatoire, Bouzareah. Tel : 021 90.14.46/ 021 90.15.03 Fax : 021 90.16.54 abadabachira@gmail.com; amina_genibio@hotmail.com.

Résumé : Le concept de biosurveillance, qui repose sur l'étude de la réponse biologique des êtres vivants aux polluants, répond justement à cette lacune de la chimie conventionnelle. En effet, les effets biologiques des produits chimiques déversés dans le milieu naturel peuvent servir d'indicateurs de pollution (ou biomarqueurs) dans le règne animal et végétal et permettent la mise en évidence précoce de contamination du milieu naturel avant l'altération de la structure des organismes. En pratique, il a donc été démontré qu'un organisme, évoluant dans des eaux polluées, est sujet à un syndrome de stress qu'il est possible d'identifier et de quantifier à l'aide d'analyses biologiques de coût relativement faible. Cependant le dit travail présente les différentes méthodes biologiques dans le domaine de la biosurveillance marine à savoir : l'Essai de toxicité aiguë : Daphnies, test de mobilité, Bactéries, test de luminescence (Microtox TM), Poisson, test de survie (statique et semi-statique), Poisson, test de survie prolongé (semi-statique), Copépodes et rotifères dulçaquicoles (toxkits), Copépodes et rotifères marins (toxkits) ; l'Essai de toxicité chronique : Cériodaphnies, test de reproduction, Daphnies, test de reproduction, Algues, test de croissance (flacons ou microplaques), Lentille d'eau, test de croissance, Brachionus, test de reproduction, Copépodes et rotifères marins (toxkits).

Mots clés : biosurveillance, toxicité chronique, toxicité aiguë, écotoxicologie

Abstract : The concept of biosurveillance, which rests on the study of the biological response of the beings alive to the pollutants, precisely answers this gap of conventional chemistry/[chemical]; the biological effects of the chemicals poured in the natural environment can be used as indicators of pollution (or biomarqueurs) in the animal kingdom and vegetable and allow the early description of contaminations of the natural environment before the deterioration of the structure of the organizations. In practice, it was thus shown that an organization, evolving/moving in polluted water, is prone to a syndrome of stress which it is possible to identify and to quantify using biological analyzes of relatively weak/[small] cost. However work says it presents the various biological methods in the field of the marine biosurveillance at knowing: Test of acute toxicity: Daphnids, test of mobility, Bacteria, test of luminescence (Microtox TM), Poisson, test of survival (static and semi-statics), Poisson, test of survival prolonged (semi-statics), the Copepoda and the marine rotifères dulçaquicoles (toxkits), Copepoda and rotifères (toxkits).

Chronic test of toxicity: Cériodaphnies, test of reproduction, Daphnids, test of reproduction, Algae, test of growth (bottles or microplaques), Duckweed, test of growth, Brachionus, test of reproduction, the Copepoda and rotifères marine (toxkits).

Key words: Biomonitoring , chronic toxicity, acute toxicity, ecotoxicology

INTRODUCTION

Ces dernières années, il y a eu un développement d'une approche ecotoxicologique originale, spécifique aux problèmes environnementaux, appropriée pour les études de terrain et l'estimation des risques engendrés par la pollution sur la santé de l'écosystème par l'utilisation intégrée de mesures biochimiques, physiologiques et chimiques.

Jusqu'à la fin des années 1980, la surveillance de l'environnement reposait essentiellement sur un ensemble de techniques d'analyses physico-chimiques plus ou moins sensibles, menant à l'évaluation des concentrations de polluants dans l'eau, les sédiments et les organismes vivants. L'inconvénient majeur de ces méthodes est peut-être l'absence de renseignements qu'elles fournissent à propos de l'impact réel des molécules chimiques sur les organismes vivants. Le concept de biosurveillance, qui repose sur l'étude de la réponse biologique des êtres vivants aux polluants, répond justement à cette lacune de la chimie conventionnelle ; les effets biologiques des produits chimiques déversés dans le milieu naturel peuvent servir d'indicateurs de pollution (ou biomarqueurs) dans le règne animal et végétal et permettre la mise en évidence précoce de contaminations du milieu naturel avant l'altération de la structure des organismes (Lafaurie et als, 1992).

En pratique, il a donc été démontré qu'un organisme, évoluant dans des eaux polluées, est sujet à un syndrome de stress qu'il est possible d'identifier et de quantifier à l'aide d'analyses biologiques e coût relativement faible.

Certains effets biologiques ne peuvent être directement rattachés à la toxicité d'un produit chimique bien précis ; ces effets peuvent résulter, soit de la présence d'un seul type de molécule encore méconnu dans le milieu, soit de la conjonction de plusieurs xénobiotiques, qui induit dans tous les cas un état de stress général chez les organismes vivants sans qu'il soit réellement possible de déterminer la part exacte de responsabilité des substances en jeu. La caractérisation de ces effets non spécifiques par des méthodes appropriées permet une évaluation globale de la santé du milieu.

Néanmoins, les symptômes les plus recherchés sont ceux que l'on peut lier à la toxicité d'un contaminant chimique particulier ; ces effets spécifiques renseignent directement sur la nature des xénobiotiques avec lesquels les êtres vivants ont été en contact et, par suite, sur l'état de dégradation de l'environnement marin dont ils sont responsables. Les métaux enfin, représentent une catégorie de molécules particulière. Certains sont purement toxiques pour les êtres vivants ; d'autres, essentiels à l'organisation et à l'entretien des fonctions biologiques, génèrent des effets toxiques sur l'organisme, passé un certain seuil de concentration. Dans les deux cas, leur accumulation à l'intérieur d'un organisme est susceptible de déclencher une réaction de défense, laquelle servira de biomarqueur pour ce type de contamination. Nous verrons que le dosage des concentrations en métaux chez les êtres vivants, lequel s'apparente

plus aux techniques d'analyses chimiques conventionnelles utilisées dans la surveillance de l'environnement, demeure une étape indispensable dans une étude en écotoxicologie.

LA TOXICITE : LES EFFETS LETAUX ET SUBLETAUX

Un polluant exercera un effet létal sur un organisme lorsqu'il y aura mort de l'individu et seulement un effet sublétaux en cas de survie de l'individu. Les différents types d'atteintes mises en évidence au niveau cellulaire vont être de deux types : structural ou métabolique. Les effets structuraux seront des modifications des organites cellulaires. Les effets métaboliques seront, par exemple, des modifications de la teneur en molécules énergétiques comme le glycogène, les hormones, les enzymes, la charge énergétique adénylique, la concentration en ADN, la fragilité lysosomale ou les mutations. Les effets létaux se produisent généralement pour des concentrations largement supérieures à celles susceptibles d'être rencontrées dans les milieux même les plus pollués.

Les stades précoces du développement des organismes présentent généralement des sensibilités nettement plus élevées que les stades adultes. Les effets qui sont mis en évidence au niveau d'un organisme résultent de la somme des atteintes qui sont intervenues au niveau cellulaire ou au niveau moléculaire (Blaise, 1984).

LES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES

Dans le but d'évaluer les risques des produits chimiques à l'égard des ressources vivantes que nous obtenons de notre environnement, on a essayé de quantifier de façon aussi précise que possible la relation entre la dose d'un produit toxique et l'effet exercé sur les êtres vivants, d'où la mise au point d'essais écotoxicologiques. Les méthodes biologiques proposées pour ces essais sont extrêmement nombreuses. Tous les groupes d'organismes marins se sont révélés être mis à contribution (algue, phytoplancton, zooplancton, microorganismes hétérotrophes, protozoaire, cœlentérés, nématodes, annélides polychètes, mollusques, crustacés et poissons).

Parmi ces tests, seul un petit nombre est reconnu par les instances nationales et internationales et est pris en compte dans les réglementations en particulier pour la mise sur le marché de substances chimiques nouvelles ou le rejet d'effluents et déchets chargés en produits chimiques. Il s'agit de tests standardisés qui doivent être parfaitement reproductibles quel que soit l'expérimentateur, ceci afin d'avoir une valeur légale. Pour ce faire, toutes les conditions expérimentales doivent être parfaitement définies. En effet, certains facteurs physico-chimiques du milieu auront une influence majeure sur la bioaccumulation et la toxicité des polluants. C'est par exemple, le cas des molécules organiques qui vont se dégrader dans le milieu aquatique en donnant de nouveaux composés, plus ou moins toxiques que la molécule originale. La vitesse de cette dégradation et donc la variation de la toxicité va souvent dépendre de la température et de l'éclairement, nombre de substances organiques donnant lieu à des phénomènes de photolyse.

Au niveau international, il existe deux normes ISO pour le milieu marin. Ce sont :

Qualité de l'eau - Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum* (ISO 10253)

Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité létale aiguë vis-à-vis des copépodes marins (Copepoda, Crustacea). (ISO/CD 14669) *Acartia tonsa* (Dana), *Tisbe battaglia* (Volkmann-Rocco), *Nitocra spinipes* (Boeck)

Les bioessais les plus utilisés sont :

Essais de toxicité Chronique : Inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec *Scenedesmus subspicatus* et *Selenastrum capricornutum*,

Essais de toxicité Aigue : Inhibition de la luminescence des bactéries *Vibrio fischeri*, inhibition de la mobilité de la *Daphnia magna*, et la génotoxicité d'une substance vis à vis de larves de batraciens.

Les essais de toxicité Chronique

Deux types d'essais permettent de déterminer la toxicité chronique, les essais à moyen terme et à long terme. L'observation des effets se fait sur un laps de temps beaucoup plus long que pour les essais aigus. Si aucun effet n'est observé, la substance ne présente pas de toxicité chronique.

Les essais à moyen terme mesurent les effets résultant de l'administration répétée d'une substance, pendant 1/10^{ème} de la vie de l'animal.

Les essais à long terme déterminent la toxicité à la suite d'une exposition répétée et prolongée à une substance, au delà de 8/10^{ème} de la vie de l'animal.

Ils peuvent permettre d'évaluer la latence d'apparition des effets et leur réversibilité.

Les essais à moyen et long terme permettent de déterminer une concentration expérimentale en dessous de laquelle aucun effet toxique n'est observé sur l'espèce étudiée dans les conditions de l'essai : **NOEC** (No Observed Effect Concentration).

BAYNE B.L, 1995

Exemple : test algue *Pseudokirchneriella subcapitata* (anc.*Selenastrum capricornutum*)

Détermination de la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*).

Le 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.

Les laboratoires utilisent plusieurs méthodes reconnues et le niveau de standardisation pour le test algal étant moins strict, deux milieux de dilution sont admis : le milieu OCDE-ISO et celui USEPA-Environnement Canada. Ils se distinguent essentiellement par la teneur en carbonate de sodium et le pH.

Les solutions testées sont enrichies avec un concentré nutritif (1/10 du volume total), afin de s'assurer que l'échantillon ne présente pas de carence en nutriments envers les algues. Ce concentré contient des éléments nutritifs ainsi que des éléments traces, le complexant EDTA et du carbonate de sodium.

Les tests peuvent être effectués en flacons de culture (p.ex. 100 ml dans erlenmeyer de 250 ml, avec agitation), ou en microplaque (volume compris entre 0,2 et 3,0 ml, sans

agitation). Un éclairage en continu de 6000 à 8000 lux pour une température des solutions de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ est préconisé, car il permet une croissance des contrôles témoins sans toutefois induire une trop forte augmentation du pH. L'emploi de flacons est recommandé pour tester un échantillon contenant des substances volatiles, car la volatilisation dans une microplaque risque de conduire à une contamination de l'ensemble des puits.

Au terme des 72 heures d'incubation, la concentration cellulaire doit être mesurée aussitôt. La croissance des algues peut être stoppée en conservant les flacons ou les microplaques au froid et à l'obscurité. Si un délai (> 1 heure) intervient entre la fin de l'incubation et la mesure des cellules par comptage (compteur Coulter® ou microscope), il est recommandé de fixer les cellules algales, en employant par exemple la solution de Lugol (préparation commerciale à 1%, p.ex. 0,1 ml dans 2 ml). D.J.H. Phillips; 1980.

RESULTATS ET VALIDITE

Un essai d'inhibition de la croissance avec *Pseudokirchneriella subcapitata* est valide si :

- Le facteur d'augmentation de la concentration cellulaire des témoins en 72 heures d'incubation est supérieur à 32. dans des conditions normales d'expérimentation, des facteurs de croissance de 100 à 300 peuvent être obtenus ;
- La variation du pH en 72 heures pour les solutions témoins est inférieure à 1,5 unités ;
- La variabilité (coef. de variation) de la croissance chez les témoins est inférieure à 20% ;
- La sensibilité des algues vis-à-vis du dichromate de potassium doit être déterminée en parallèle à la série considérée. Les résultats d'essais interlaboratoires fournissent une valeur de CE_{50-72} heures comprise entre 0,24 et 1,03 mg $K_2Cr_2O_7 / l$ (calculée sur la biomasse ; essais avec fioles conique ou microplaques ; EN 28692 et AFNOR T90-375).

L'INTERPRETATION DES RESULTATS

Ces données toxicologiques ont été obtenues à partir d'une expérience réalisée en laboratoire dans des conditions types définies. Elles donnent une indication des risques potentiels, elles permettent de classer différents produits en fonction de leur toxicité relative Tableau 1, mais ne peuvent pas être utilisées directement pour prévoir les effets dans un environnement naturel.

En interprétant les valeurs de CE_{50} et CSE_0 , il convient de tenir compte de la forme des courbes de croissance. *Fig. 1 Réponse - Dose*. Certaines caractéristiques de ces courbes (par exemple, départ tardif de la croissance ; bonne croissance initiale, mais non soutenue par la suite) peuvent aider l'interprétation du mode d'action de la substance toxique.

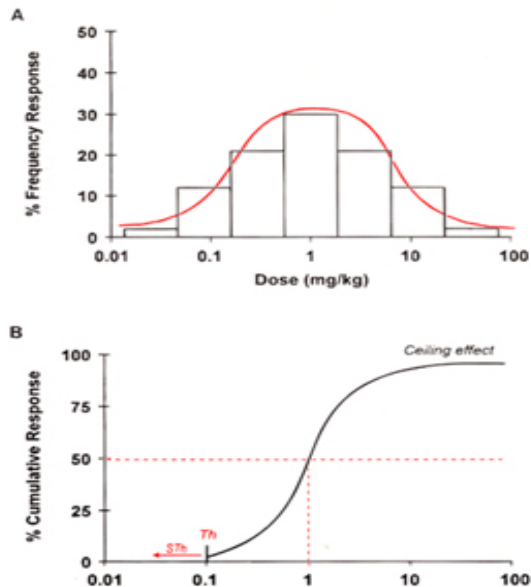


Fig.1. Dose-reponse graphs: (A) frequency-reponse graph and (B) cumulative-reponse graph showing subthreshold dose (STh), threshold dose (Th), and ceiling effect (Bradagin et al., 1992).

Les essais de toxicité Aiguë

Ce sont des essais à court terme : les effets doivent se révéler dans un laps de temps (de quelques heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'animal) après administration d'une dose unique de substance. Si aucun effet n'est observé, la substance n'a pas de toxicité aiguë (ce qui ne veut pas dire que cette substance ne présente pas de toxicité chronique). Ces essais permettent d'établir une relation entre la concentration d'exposition et l'intensité de l'effet.

Les résultats sont généralement exprimés par une **CE 50** (Concentration Efficace). La CE 50 est la concentration pour laquelle les effets sont observés pour 50 % des individus testés. Les effets observés sont, par exemple, la létalité (le "E" est alors remplacé par le "L" CL50) ou l'inhibition de la mobilité (le "E" est alors remplacé par le "I" CI 50).

Des CE 10 et CE 20 pour lesquelles les effets sont observés, respectivement, pour 10 et 20 % des organismes testés sont plus rarement utilisées.

Exemples : test daphnies, test bactéries luminescentes

Test bactéries luminescentes ; *Vibrio Fischeri* : Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes)

L'essai doit être effectué avec 3 durées d'exposition consécutives 5, 15 et 30 mn. L'évolution dans le temps d'une inhibition peut fournir une indication intéressante sur le type de substance toxique en cause (métaux, ou polluants organiques).

Dans la gamme de dilutions testées, la concentration la plus élevée est en règle générale de 45 à 50%. Pour les échantillons faiblement toxiques, des concentrations allant jusqu'à 80 à 90% sont admises.

Pour les échantillons dont la coloration interfère sur la mesure de la bioluminescence, la procédure de la coloration de couleur est déterminée à 15 et à 30 mn d'exposition.

Test daphnies ; *daphnia magna* : Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus – Essai de toxicité aiguë

Ce test daphnie appliqué selon la norme ISO 6341 est applicable pour déterminer la toxicité aiguë vis-à-vis de *Daphnia magna* des substances chimiques solubles ou pouvant être maintenues en suspension ou en dispersion stable dans les conditions d'essai, des effluents industriels et urbains épurés ou non et des eaux de surface ou souterraines naturelles. L'eau de dilution et le milieu de contrôle témoin sont constitués par le milieu synthétique iso 6341(4 sels majeurs), ce dernier permet aisément la survie des jeunes daphnie à court terme (jusqu'à 72 heures au moins). L'exposition est effectuée à 20°C et l'obscurité, lors de l'introduction des daphnies doit être minimal pour éviter de modifier la concentration souhaitée (par exemple moins de 0,2 ml dans 10ml). Une alternative est de compléter au volume adéquat avec l'eau de dilution après l'introduction des daphnies.

Si nécessaire (en présence d'odeurs, suspicion de substances volatiles. Ets.), les tubes à essai sont bouchés avec un film (Parafilm® par exemple). GUIDE POUR DES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES

RESULTATS ET VALIDITE DU TEST

L'essai d'immobilité de *Daphnia magna* est valide si :

- Le pourcentage d'immobilisation observé chez les témoins est inférieur ou égale à 10% en fin d'essai ;
- La teneur en oxygène dissous dans les récipients d'essai est supérieur ou égale à 2 mg O₂/l en fin d'essai ; l'oxygène est normalement mesuré à la concentration la plus basse ayant induit une immobilisation de 100% ;
- La variation du PH durant l'essai est inférieur à 1.0 unité (pH mesuré à la concentration la plus basse ayant induit une immobilisation de 100%) ;
- La concentration d'effet CE₅₀₋₂₄ heures du dichromate de potassium est comprise entre 0.6 et 201 mg K₂CrO₇/l (EN 6341).

L'essai d'inhibition de la luminescence avec *Vibrio fischeri* si :

- Le facteur de correction est supérieur à 0.70
($f_{kt} = \text{blanc Ratio} : \text{luminescence au temps } t /_{kt} / \text{luminescence initiales} /_{\circ}$ pour les cuvette témoins) ;
- la variabilité (coef. de variation de la luminescence initiale est inférieur à 20%
- la sensibilité des algues vis-à-vis du dichromate de potassium doit être en parallèle à la série considérée. Les résultats d'essais interlaboratoires fournisse une valeur de CE₅₀₋₇₂ heures comprise entre 0.24 et 1.03 mg K₂Cr₂O₇ /l (calculée sur la biomasse ; essais avec fioles coniques ou microplaques ; EN 28692 et AFNORT90-375. GUIDE POUR DES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES

EXPRESSION ET METHODE DE CALCUL

L'évaluation des résultats des bioessais repose sur l'examen des données brutes puis sur une description des données sous formes de graphiques, de tables de paramètres statiques.

Cette évaluation sert à calculer les paramètres statiques pour la quantification de la toxicité et pour le degré de signification statistique (GUIDE POUR DES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES). Les réponses des organismes pour chaque concentration au terme du test, exprimées en pourcentage d'inhibition par rapport aux témoins, calculées de la manière suivante :

Daphnies :

$$\text{Inhibition de la mobilité (\%)} = \frac{\text{nombre de daphnies immobiles}}{\text{nombre total de daphnies exp osées}} = 100$$

$$\text{Bactéries luminescence (\%)} = \frac{(l_{oe} * f_{kt}) - l_{Tt}}{(l_{oe} * f_{kt})} * 100$$

Avec : L_{oe} : luminescence initiale dans la cuvette d'échantillon au temps zéro.

l_{Tt} : luminescence dans la cuvette d'échantillon au temps t (5,15 ou 30 min),

f_{kt} : facteur de correction traduisant l'évolution de la luminescence pour les témoins pendant la durée de l'essai (" Blanc Ratio").

Algues Vertes :

$$\text{Inhibition de la croissance (\%)} = \frac{N_T - N_l}{N_T} * 100$$

Avec : N_T : nombre moyen de cellules (ou paramètre équivalent) à 72 heures dans la solution témoin,

N_l : nombre moyen de cellules (ou paramètre équivalent) à 72 heures dans la concentration l de la solution d'essai.

Expression des Résultats De Toxicité

Pour un échantillon toxique, la relation entre les concentrations et les réponses aux termes du test se présente souvent sous la forme d'une courbe sigmoïde (Fig. 2). Souvent, les résultats sont condensés et exprimés à travers la concentration qui induit un effet toxique pour 50% des individus (immobilisation, mortalité) ou une inhibition de 50% de l'activité des organismes (luminescence, croissance) en comparaison du témoin, cette concentration, dite concentration efficace 50= CE_{50} est calculée d'après la relation dose-réponse. Plus la concentration efficace est faible, plus l'échantillon est toxique.

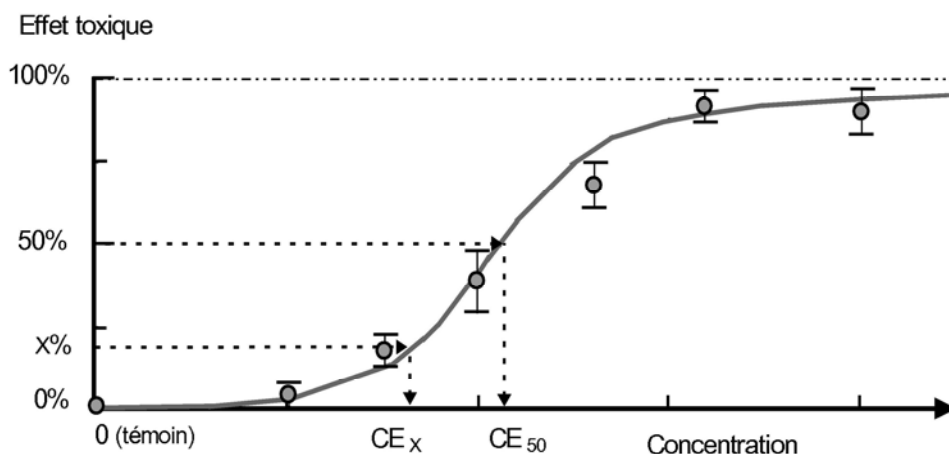


Fig 2 : Courbe concentration-réponse (GUIDE POUR DES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES)

LA GENOTOXICITE (d'une substance vis à vis de larves de batraciens.)

Dans ce test, les organismes d'essais seront des êtres pluricellulaires - des larves de Batraciens - mais l'effet toxique sera recherché au niveau de cellules particulières, en l'occurrence les érythrocytes.

Des larves de Pleurodèle ou d'Axolotl sont exposées pendant 12 jours à une gamme de concentration de la substance à tester. Au terme de l'exposition, on recherchera sur frottis sanguins, la présence d'érythrocytes à micronoyaux. Les micronoyaux sont de petites masses de chromatine intracytoplasmique ayant l'apparence de petits noyaux. Ils s'individualisent à partir de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers qui n'ont pas migré à l'un des pôles du fuseau lors de l'anaphase de la division cellulaire. Le phénomène se produit de façon spontanée chez les animaux non traités mais les substances génotoxiques entraînent une augmentation du nombre de cellules à micronoyaux.

Le protocole expérimental est extrêmement précis comme précédemment mais avec quelques points particuliers :

- la méthode ne s'applique pas qu'à des substances solubles dans l'eau. Dans le cas de substances peu ou pas solubles dans l'eau, un solvant intermédiaire lui-même miscible à l'eau peut être utilisé pour la préparation des solutions d'essai. Dans ce cas l'essai témoin devra être additionné de la même quantité de solvant intermédiaire.

- dans certains cas, aucune augmentation significative du nombre de cellules à micronoyaux n'est observée chez les individus exposés à un xénobiotique. Avant de conclure d'un essai négatif que la substance testée n'est pas génotoxique, la norme prévoit qu'il faut avoir testé en parallèle une substance connue pour avoir un effet significatif le benzo(a) pyrène à 0,05 mg/l. Si les larves de batraciens réagissent positivement au benzo et négativement à la substance inconnue, les résultats du test sont acceptés.

Ces précautions tiennent à deux faits : i) que la variabilité interlaboratoire est nettement plus forte que dans le test précédent, ii) que les objectifs du test sont nettement plus

ambitieux : permettre d'aider à la prévision des risques de disparition de certaines populations ou de modifications irréversibles de leurs fonctions.

SUR LE TERRAIN, COMMENT PROCEDE-T-ON?

Choix de l'organisme : De préférence, des organismes mis en cage et transplantés

Exemples de bioindicateurs: On se doit de connaître la physiologie et l'écologie de l'espèce ; L'échantillonnage doit être facile ; L'organisme doit être de niveau trophique assez élevé ; L'organisme choisi doit avoir une bonne sensibilité aux contaminants ; Une valeur sociétale et écosystémique (Amiard et als, 1987).

Cadre conceptuel pour utiliser une approche écotoxicologique

Première étape : 1. Identification du problème ; 2. Caractérisation physico-chimique de l'écosystème ; 3. Identification des lacunes dans les connaissances ; 4. Caractérisation des voies de l'exposition ; 5. Identification des espèces sensibles et 6. Identification des valeurs sociétales.

Deuxième étape : Choix d'un plan expérimental: études à long terme en utilisant des animaux transplantés pour le suivi spatio-temporel des mesures choisies ,Choix de plusieurs espèces indicatrices ,Choix d'un site: pertinence écologique et/ou sociétale

Choix des mesures : Les réponses biochimiques: les plus immédiates

Les réponses toxicologiques sont reliées à l'interaction du toxique avec un récepteur biochimique (au sens large). Les réponses biochimiques sont les premières observées .Elles répondent plus vite que l'organisme entier ; souvent considérées comme des outils prédictifs ; Indiquent une réponse non spécifique au stress .Toute variation induite lors d'un stress environnemental et/ou par la présence d'une pollution diffuse

Exemples: Mesures enzymatiques du métabolisme énergétique ou des processus oxydatifs, mesures de l'ARN/ADN, des enzymes lysosomiales, mesures du fonctionnement d'un organe, d'enzymes spécifiques à un organe... mesures indicatrices d'un dommage, lactate déshydrogenase, transaminases, créatinine phosphokinase, les phosphatases alcaline (Amiard et als, 1987).

CONCLUSION

L'étude de la réponse biologique des organismes vivants aux polluants chimiques présents dans l'environnement marin représente un nouvel outil qui n'est pas destiné à dupliquer ou remplacer la surveillance chimique, mais qui doit être intégré dans les programmes de surveillance de l'environnement. Complémentaires des analyses physico-chimiques, les indicateurs biologiques peuvent jouer le rôle de systèmes d'alarme précoces d'une contamination dont les effets sont encore réversibles.

La liste d'indicateurs présentés ici n'est évidemment pas exhaustive. Quelques autres méthodes sont aujourd'hui bien connues, généralement admises et prêtes pour une application sur le terrain. Elles mènent selon Lafaurie et al., 1992, par exemple, à:

- l'utilisation de biomarqueurs moléculaires tels que les altérations des acides nucléiques (ADN, ARN) par les xénobiotiques et les métaux ;

- l'étude des anomalies de la fécondation et l'embryotoxicité chez des groupes variés d'animaux (Echinodermes, Mollusques Bivalves, Poissons) ;
- la caractérisation de certaines anomalies chromosomiques ;
- la mesure de la distribution cellulaire et subcellulaire des polluants, par microanalyses ;
- la révélation de la réponse immunitaire des organismes aux contaminants chimiques.

Quelque soit le procédé envisagé, aucun n'est approprié à toutes les circonstances et il est nécessaire d'établir un répertoire de méthodes qui peuvent répondre à des situations variées. Par ailleurs, un biomarqueur ne peut être utilisé seul pour détecter ou prédire un risque de pollution ; plusieurs indicateurs sont au contraire nécessaires pour évaluer l'impact biologique d'un mélange de contaminants, qui constitue la situation la plus fréquemment rencontrée in situ.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est certain que l'emploi des biomarqueurs dans la surveillance de l'environnement est encore limité à certains types de pollutions bien précis. Mais si nous admettons qu'un effet toxique est toujours lié à une expression biochimique, physiologique ou anatomique chez les êtres vivants, nous pouvons espérer développer dans le futur d'autres indicateurs biologiques et élargir ainsi le spectre des contaminations décelées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afnor, 1993. Qualité de l'eau : Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec *Scenedesmus subspicatus* et *Selenastrum capricornutum*. Association française de normalisation. Paris. Norme NF EN 28692 (NF T90-304).
- Afnor, 1996. Qualité de l'eau : Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*). Essai de toxicité aigue. Association française de normalisation, Paris. Norme NF EN ISO 6341 (NF T90-301).
- Amiard J.C., Amaiard-Triquet C., Berthet B. & Métayer C., 1987. Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *J. exp. mar Biol. Ecol.*, no 106, p. 73-89.
- Bayne B.L., 1987, The effects of stress and pollution on marine animals, Praeger Scientific, New York, 1985.
- Blaise, C. 1984. Développement de bioessais sublétaux pour les évaluations écotoxicologiques des effluents. Thèse de Doctorat, Univ. Metz, Metz, France, 172 pp.
- Bradagin M., Argese E., Nicolli A. & Bernadi P., 1992. Toxicity measurements in water by biological probes. In : *Heavy metals in the Environment*, Farmer JG, ed., CEP Consultants, Edinbiurgh, Volume 2, 290-293.
- D.J.H. Phillips, Quantitative aquatic biological indicators. Their use to monitor trace metal and organochlorine pollution, Applied Science Publication, London, 1980. Nombre de pages à vérifier.

- Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Luman, 2002, Guide pour des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. Groupe de travail Tests écotoxicologiques .
- ISO, 1996. Qualité de l'eau- Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*). Organisation internationale de normalisation, Genève. Norme ISO 6341.
- ISO, 2006 Qualité de l'eau -- Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum*
- Lafaurie M., Narbonne J.F & Galgani F., 1992. Indicateurs biochimiques de contamination de l'environnement marin. Anal. Mag., v. 20, n° 6: 27-33.
- OCDE 1996. Proposal for updating Guideline 2002, Part II - *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Guideline for Testing Chemicals. Org. Cooperation et Développement Economique, Paris.
- Namour P. 1992. Les mono-oxygénases de poissons, un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. Etudes du CEMAGREF, série Ressources en Eau, n° 6, 232 p.
- USEPA & US Army Corp of Engineers 1998. Evaluation of dredged material proposed for discharge in water of the U.S. Testing manual. U.S. environment Protection Agency, Cincinnati (Ohio), Rep. EPA/823/B-98/004.