



**HAL**  
open science

## La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental

A. Tilghman, Gilles Garric, Marina Coquery

### ► To cite this version:

A. Tilghman, Gilles Garric, Marina Coquery. La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. [Rapport de recherche] irstea. 2009, pp.49. hal-02595317

**HAL Id: hal-02595317**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02595317>**

Submitted on 15 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Convention de partenariat ONEMA-Cemagref 2008

*Domaine : Substances Polluantes*

*Action : 13 - Développement et optimisation des méthodes physico-chimiques*

# La mesure des contaminants dans le biote : un état des lieux des avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental

A.Tilghman, J. Garric et M. Coquery

UR QELY : Laboratoire d'analyses physico-chimiques des milieux aquatiques

UR BELY : Biologie des écosystèmes aquatiques

**Groupeement de Lyon**

3 bis quai Chauveau - CP 220

69336 LYON cedex 09

Tél. 04 72 20 87 87 - Fax 04 78 47 78 75

*mars 2009*



## Avant-propos

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2008 dans le cadre du partenariat ONEMA – Cemagref 2008, au titre de l'action 13 « Développement et optimisation des méthodes physico-chimiques » du domaine « Substances polluantes ».

## Remerciements

La réalisation de ce travail a bénéficié de la précieuse collaboration de nombreuses personnes, que nous remercions :

Personnel des Agences de l'eau : Manuel Sarraza, Luc Pereira-Ramos et Francois Lamy (Seine-Normandie), Thomas Pelte (RMC), Cédric Halkett et Jean Prygiel (Artois-Picardie), Jacky Durocher et Xavier Bourrain (Loire-Bretagne), Philippe Thiebaut (Adour-Garonne) ;

du Cemagref : Pierre Elie (Bordeaux), Catherine Gourlay (Antony), Marc Babut, Benoit Ferrari, Annie Roy (Lyon) ;

d'autres organismes publics et instituts de recherche français : Cyril Bourg (Diren, Rhône-Alpes), Sébastien Pradelle (MEDD), Alice James et Didier Claisse (Ifremer), Olivier Perceval (Onema), Regine Maury-Brachet (Université de Bordeaux 1), Martine Blanchard (Université Pierre et Marie Curie) ;

d'Instituts de recherche étrangers : Jaako Mannio (SYKE, institut finlandais pour l'environnement), Elisabeth Nyberg (Musée suédois d'histoire naturelle), Julia Schwaiger et Suzanne van de Graaff (LfU, Bavière, Allemagne), Mathias Ricking (Université libre, Berlin), Martin Gurtz (NAWQA, USGS), Claude Belpaire (INBO, Institut belge pour l'environnement).

**Référence à citer** : Tilghman, A., Garric, J., Coquery, M. (2009). La mesure des contaminants dans le biote : un état des lieux des avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. Cemagref, 51 p.

## Résumé

En vue d'atteindre efficacement les objectifs de la directive européenne cadre sur l'eau (DCE) concernant le suivi des tendances temporelles et spatiales des concentrations des contaminants dans les masses d'eaux, ainsi que l'application des normes de qualité environnementales (NQE) biote établies pour trois substances prioritaires (le mercure total, l'hexachlorobenzène et l'hexachlorobutadiène), il convient aujourd'hui d'harmoniser et de normaliser à la fois les méthodologies d'échantillonnage et les critères de choix des organismes sentinelles.

Ce document résume les différentes études réalisées sur ce sujet. Il présente les avantages et les inconvénients dans l'utilisation des différents organismes sentinelles pour la surveillance chimique et décrit les méthodes d'échantillonnage les plus souvent pratiquées au sein des programmes de surveillance.

Les mousses aquatiques sont un outil biologique bien connu en France pour le suivi temporel et spatial des métaux dans les cours d'eau. Leur inconvénient principal est la difficulté de leur application à la surveillance pour la DCE en l'absence de NQE biote pour les métaux.

Les mollusques bivalves tels que la dreissène (*Dreissena polymorpha*) sont également bien connus et utilisés en France (dans le cadre du PIREN Seine par exemple) et dans autres pays (comme le Mussel Watch aux Etats-Unis) pour la surveillance des métaux et des micropolluants organiques. Néanmoins ce sont des espèces invasives, aussi il serait plus judicieux de porter le choix sur une espèce indigène (autochtone) comme l'anodonte du cygne (*Anodonta cygnea*) par exemple. Par contre, il existe peu d'études de surveillance réalisées avec cette espèce en vue de la valider en tant que biomoniteur. D'autres macroinvertébrés tels que les chironomes (*Chironomus riparius*) et les gammares (*Gammarus pulex*) présentent un intérêt certain pour le suivi des métaux notamment, mais les études utilisant ces organismes sont actuellement généralement limitées aux tests de toxicité et de biomarqueurs, et peu de suivis sur la bioaccumulation des contaminants chez ces espèces sont documentés.

Les espèces piscicoles sont également intéressantes pour le suivi des contaminants organiques ainsi que pour les métaux. La difficulté réside ici dans le choix d'une ou de plusieurs espèces sentinelles représentatives des masses d'eaux à surveiller, ainsi que dans l'harmonisation des paramètres d'échantillonnage (nombre d'individus par échantillon composite, gamme de taille ou d'âge à cibler) et le choix des organes à cibler pour les analyses des contaminants.

### Mots clés

Surveillance chimique, biomoniteur, DCE, échantillonnage, milieu continental, continental, métaux, substances prioritaires, norme de qualité environnementale



## Table des matières

Avant-propos		ii
Remerciements .....		ii
Résumé		iii
1	Introduction .....	1
1.1	<b>Objectifs</b> .....	<b>1</b>
1.2	<b>Contexte : le biote et la surveillance chimique</b> .....	<b>1</b>
1.3	<b>Méthodologie bibliographique</b> .....	<b>2</b>
2	Problématique du choix des organismes sentinelles pour la surveillance chimique .....	3
2.1	<b>Critères de choix de l'espèce sentinelle</b> .....	<b>3</b>
2.1.1	Les objectifs des programmes de surveillance .....	3
2.1.2	Contaminants recherchés.....	5
2.1.3	Les stratégies d'échantillonnage.....	6
3	Etudes sur le biote aquatique : les méthodes d'échantillonnage appliquées et les micropolluants recherchés.....	7
3.1	<b>Mousses aquatiques</b> .....	<b>7</b>
3.1.1	La stratégie d'échantillonnage à privilégier .....	7
3.1.2	Les différentes espèces utilisées.....	7
3.1.3	Les paramètres d'échantillonnage .....	8
3.1.4	Exploitation des résultats pour les métaux .....	9
3.1.5	Un outil intéressant pour la surveillance des micropolluants autre que les métaux ? ...	10
3.1.6	Avantages et inconvénients .....	11
3.2	<b>Macroinvertébrés</b> .....	<b>11</b>
3.2.1	Les espèces les plus fréquemment utilisées.....	11
3.2.2	Paramètres d'échantillonnage des mollusques bivalves.....	15
3.2.3	Avantages et inconvénients .....	16
3.3	<b>Ichthyofaune</b> .....	<b>17</b>
3.3.1	Les critères plus spécifiques à considérer.....	17
3.3.2	Choix des espèces piscicoles pour la surveillance chimique.....	21
3.3.3	Avantages et inconvénients .....	23
4	Programmes de surveillance pour le milieu continental.....	24
4.1	<b>Les Agences de l'eau (France)</b> .....	<b>24</b>
4.2	<b>Le Plan national PCB (France)</b> .....	<b>24</b>
4.3	<b>Flemish Eel Pollutant Monitoring Network (Belgique)</b> .....	<b>25</b>
4.4	<b>Programme national de surveillance en Finlande</b> .....	<b>25</b>
4.5	<b>CIPEL (Franco-Suisse)</b> .....	<b>26</b>
4.6	<b>Programme NAWQA (USA)</b> .....	<b>26</b>

5	Conclusion et recommandations.....	28
6	Références .....	33
Annexes		40



## Liste des tableaux

Tableau 1 : Les modes de contamination de différents organismes aquatiques .....	6
Tableau 2 : Les méthodologies recommandées pour l'utilisation des mousses aquatiques .....	8
Tableau 3 : La grille de qualité et l'interprétation des seuils métalliques (mg/kg PS) dans les mousses aquatiques (d'après AE, 1998 et AE, 2003).....	9
Tableau 4 : La grille de qualité développée pour l'interprétation des concentrations des métaux détectées chez <i>Dreissena polymorpha</i> (d'après Mersch, 1993a et Corvi <i>et al.</i> , 1995) .....	12
Tableau 5 : Les quatre sous-stades larvaires de <i>C. riparius</i> distingués par la taille de leur capsule céphalique et autres développements morphologiques .....	14
Tableau 6 : Recommandations d'échantillonnage des mollusques bivalves du milieu continental et comparaison avec le milieu marin .....	15
Tableau 7 : Grille des avantages et inconvénients des différents macroinvertébrés selon les critères de choix d'un organisme sentinelle. ....	16
Tableau 8 : Synthèse sur les organismes ciblés selon les objectifs de surveillance et les critères de sélection .....	31
Tableau 9 : Sélection des biomoniteurs et différents paramètres d'échantillonnage proposée par le CMA pour la surveillance chimique des cours d'eau.....	32

# 1 Introduction

## 1.1 Objectifs

Afin de fournir des éléments sur les méthodologies de surveillance chimique du biote pour le milieu continental, ce rapport synthétise les différentes techniques et travaux de recherche, appliqués sur ce sujet, en France et en Europe.

Cette synthèse a pour ambition d'établir quels sont les avantages et les inconvénients de l'utilisation de différents organismes (organismes sentinelles) pour le suivi des substances chimiques (ou contaminants) dans les eaux douces, dans le cadre de l'application de la directive cadre sur l'eau (DCE) (EC, 2000). Il décrit en particulier les espèces (flore et faune) les plus utilisées, tels que les mousses aquatiques, les mollusques bivalves et différentes espèces piscicoles. De plus, les différentes stratégies d'échantillonnage utilisées lors des études conduites au cours des programmes de surveillance nationaux et internationaux sont examinées.

L'objectif n'est pas ici de cibler un organisme aquatique unique et idéal pour la surveillance de l'ensemble des bassins français mais plutôt d'établir quels critères sont retenus dans le choix des organismes et ce en fonction de différents facteurs :

1. les objectifs du programme de surveillance : évaluation spatiale et /ou temporelle de la contamination, vérification de la conformité aux normes de qualité environnementales (NQE),
2. le bassin versant étudié (on ne trouve pas forcément la même espèce dans toutes les masses d'eau continentales),
3. les contaminants recherchés.

## 1.2 Contexte : le biote et la surveillance chimique

Dans le cadre de la surveillance chimique des milieux aquatiques, les organismes vivants représentent une matrice intéressante car ils donnent des informations complémentaires sur certains micropolluants que n'apportent pas les analyses sur l'eau, la matière en suspension ou les sédiments (fraction biodisponible, bioaccumulation des substances hydrophobes...). Certains organismes sont choisis uniquement pour connaître l'état des écosystèmes alors que d'autres, tels que les poissons ou les moules comestibles, sont utilisés pour faire l'interface entre la qualité du milieu et la qualité sanitaire.

Le développement et la standardisation de l'utilisation des organismes aquatiques (i.e., le biote) en tant que supports analytiques sont devenus une priorité depuis l'adoption par la Communauté européenne de la DCE (EC, 2000), et la publication de la directive fille (EC, 2008) définissant notamment des normes de qualité environnementale (NQE) dans le biote pour trois des 33 substances prioritaires : l'hexachlorobenzène (10 µg/kg), l'hexachlorobutadiène (55 µg/kg) et le mercure total (20 µg/kg) (concentrations exprimées en poids frais dans les tissus).

Avant toute application des NQE biote, chaque état membre (EM) devra adopter des stratégies de surveillance, notamment les méthodologies d'échantillonnage et d'analyses, afin d'obtenir des résultats homogènes qui permettront par la suite d'établir des comparaisons à l'échelle nationale et européenne. Pour faciliter cette démarche, le groupe de travail européen CMA<sup>1</sup> travaille actuellement sur la rédaction d'un document guide technique sur les stratégies de surveillance chimique dans les sédiments et dans le biote

---

<sup>1</sup> Chemical Monitoring Activity

pour les milieux aquatiques (eaux intérieures telles que rivières, lacs, eaux de transition, eaux littorales et autres eaux marines). Un guide technique est également en cours de préparation par le CSTEE<sup>2</sup> pour calculer les NQE pour les sédiments ou le biote des autres substances prioritaires. Ce développement des NQE pour les sédiments et le biote est une tâche encore plus ambitieuse puisque de nombreuses données nécessaires sont encore manquantes. Ces deux documents seront mis à la disposition des EM avant la fin 2009.

Afin de se doter d'une capacité d'expertise scientifique et technique pour être en mesure de faire face aux grands enjeux du secteur de l'eau et des écosystèmes aquatiques, et de répondre aux exigences réglementaires européennes et françaises, l'Office national de l'eau et des milieux aquatiques (ONEMA) a été créé en France par la loi sur l'eau et les milieux aquatiques (LEMA) du 30 décembre 2006. De plus, afin d'assister les gestionnaires des milieux aquatiques (Agences de l'eau, DIREN, etc.) dans le développement et l'amélioration des méthodologies chimiques et biologiques existantes, le réseau AQUAREF<sup>3</sup> a été mis en place.

### **1.3 Méthodologie bibliographique**

Pour proposer un bref historique sur l'utilisation des organismes et les stratégies d'échantillonnage en France, il a fallu dans certains cas (pour les mousses aquatiques par exemple) examiner les études réalisées dans les années 80 et au début des années 90. La littérature scientifique plus récente sur les macroinvertébrés et les espèces piscicoles a été également prise en compte.

Les sources bibliographiques ont été recueillies parmi les bases de données suivantes :

- SCIENCE DIRECT
- ACS publications
- SETAC journals
- SPRINGERLINK,
- EAUDOC (base de données bibliographiques des Agences de l'eau)

Ont été utilisés, entre autre, comme mots clés : bioaccumulation, environmental monitoring, chemical monitoring, les noms scientifiques des organismes, etc.

Les études sur la recherche des organismes vivants pour surveiller l'aspect environnemental du milieu aquatique ont été privilégiées aux études portant sur l'aspect sanitaire. Dans ce dernier cas en effet, les objectifs ainsi que les méthodes d'échantillonnage et d'analyse sont différents.

Par ailleurs les études dites « de tendance » portant sur la surveillance des concentrations de contaminants dans les organismes (temporelle, spatiale) ont été examinées, ainsi que celles portant sur les effets écotoxicologiques (comme l'utilisation des biomarqueurs pour évaluer les effets précoces une contamination chimique). On s'est intéressé également à des études scientifiques ponctuelles sur la bioaccumulation des substances chimiques prioritaires (i.e., mesure des concentrations des substances chimiques dans l'organisme).

Ce rapport s'adressant d'abord à l'ONEMA, aux Agences de l'eau, aux DIREN, ainsi qu'aux laboratoires français, les études sur les organismes aquatiques conduites en France et dans les pays européens ont été privilégiées. Toutefois, les méthodes de prélèvements utilisées dans d'autres pays (p.ex., les Etats-Unis) sont également présentées.

---

<sup>2</sup> Comité Scientifique sur la Toxicité, l'Ecotoxicité et l'Environnement

<sup>3</sup> Le laboratoire national de référence sur la surveillance des milieux aquatiques, coordonné par l'INERIS avec pour partenaires cinq instituts de recherche publiques (BRGM, CEMAGREF, IFREMER, INERIS et LNE) et en partie financé par l'ONEMA.

## 2 Problématique du choix des organismes sentinelles pour la surveillance chimique

### 2.1 Critères de choix de l'espèce sentinelle

Le terme « biomoniteur » est souvent employé dans un sens différent selon les auteurs. A travers ce document nous utiliserons ce terme pour décrire les organismes ou les espèces aquatiques utilisés pour la surveillance des substances chimiques (ou contaminants). Ces organismes dits « sentinelles » doivent être, d'après Beeby (2001) :

- insensibles aux concentrations d'un contaminant dépassant les concentrations naturelles,
- intégrateurs des fractions biodisponibles du contaminant dans le temps et l'espace, et ce de manière quantifiable,
- accumulateurs afin de signaler une pollution et de comparer l'état chimique entre les sites.

Les critères de base pour le choix d'un biomoniteur d'après Phillips (1980) et Hellawell (1986) sont les suivants ; les organismes doivent être :

- sédentaires (un organisme restant dans la même zone pendant une certaine durée, un an ou plus) et éventuellement non-migratoire, voire sessile,
- ubiquistes, abondants et représentatifs des sites étudiés,
- faciles à identifier et à prélever (p.ex., certaines espèces sont très similaires et difficiles à différencier à l'œil nu ; se tromper peut avoir un effet sur les résultats),
- suffisamment gros pour obtenir la quantité de tissu biologique nécessaire pour les analyses chimiques,
- robustes vis-à-vis des contaminants et des manipulations,
- à même de supporter la transplantation dans des cages,
- facilement cultivables dans un laboratoire,
- présenter une capacité de bioaccumulation suffisamment importante afin d'identifier une corrélation entre les concentrations du contaminant dans les tissus biologiques et les concentrations dans le milieu (colonne d'eau et/ou sédiments).

Le choix du biomoniteur doit se baser également sur les 3 éléments suivants :

- les objectifs de la surveillance,
- les contaminants recherchés,
- les paramètres d'échantillonnage.

Les objectifs doivent être impérativement définis de manière claire et précise. Les contaminants à analyser ainsi que les paramètres d'échantillonnage nécessiteront des critères plus spécifiques afin de cibler un ou plusieurs biomoniteurs. Ci-dessous sont décrites quelques propositions de critères selon ces trois éléments.

#### 2.1.1 Les objectifs des programmes de surveillance

Pour la surveillance des contaminants, les objectifs consistent le plus souvent à évaluer les tendances temporelles et/ou spatiales de la contamination dans les organismes et éventuellement de déterminer si les stations en question sont en conformité avec les seuils établis dans le biote par la réglementation nationale ou internationale, quand ils existent.

### 2.1.1.1 Analyse temporelle

En ce qui concerne l'étude des tendances temporelles, le but est d'observer sur le long terme une évolution (annuelle par exemple) des concentrations (p.ex., réduction de 50% du contaminant sur une période de 10 ans, OSPAR, 1999). Pour cela il faut un biomoniteur avec une durée de vie de deux ans au minimum. Pour ces analyses la surveillance passive (le prélèvement des populations indigènes ou autochtones) est le plus souvent pratiquée.

### 2.1.1.2 Analyse spatiale

Le but des analyses spatiales est de connaître le niveau de contamination existant et la répartition des contaminants dans une ou plusieurs régions. Ces analyses permettent également d'identifier les régions sous fortes pressions anthropiques et les pollutions plus ponctuelles. Pour ces analyses, la surveillance passive pourrait être pratiquée, ainsi que la surveillance active (la transplantation d'un groupe d'individus mis en cage sur les différents sites étudiés).

### 2.1.1.3 Comparaisons aux seuils (NQE)

Les NQE biote de la DCE (les concentrations moyennes annuelles à ne pas dépasser dans l'organisme pour une substance donnée) ont pour but de protéger (1) la santé humaine *via* une contamination par la nourriture (poissons, moules, crustacés...), et (2) les prédateurs secondaires (les oiseaux et mammifères) d'un empoisonnement par voie trophique (EC, 2009<sup>4</sup>).

Aujourd'hui, une NQE biote est établie par la Communauté Européenne (EC, 2008) pour trois des 33 substances prioritaires : l'hexachlorobenzène (HCB) (10 µg/kg), l'hexachlorobutadiène (HCBd) (55 µg/kg) et le mercure (Hg) total (20 µg/kg) ; (concentrations exprimées en poids frais (PF) dans les tissus). Une NQE biote (et/ou sédiment) pour les autres substances prioritaires pourrait être établie par les EM, en tenant compte du fait que les méthodologies employées pour le calcul de ces normes doivent être cohérentes entre les EM afin de permettre une comparaison au niveau national et européen. Un guide technique européen pour l'aide à la dérivation au calcul des NQE biote est en cours de finalisation. Par ailleurs, bien que le présent document n'aborde pas la question des méthodes d'analyse des contaminants, il est important de remarquer que les analyses dans le biote pour le Hg et l'HCB peuvent être effectuées selon les méthodologies normalisées existantes. Par contre, actuellement, aucune méthode normalisée n'a été établie pour l'analyse de l'HCBd (Schiaivone et Coquery, 2009).

D'autres questions se posent concernant l'application des NQE et le choix des organismes à cibler lors des analyses et de la comparaison des données :

#### Remarques sur l'application de la NQE biote : le cas du mercure (Hg)

Quelle forme de mercure faut-il analyser ? Lors de la détermination de la NQE biote, c'est le méthylmercure (MeHg) qui a été retenu (EC, 2005). Aussi, la circulaire française du 7 mai 2007 mentionne cette forme du mercure à cibler (MEDAD, 2007), alors que la directive fille NQE (EC, 2008) indique le Hg total pour la NQE biote. Si on cible les poissons lors des analyses, cette différence n'aura *a priori* pas trop d'influence sur les concentrations mesurées car le MeHg représente entre 80 et 100% du Hg total, en fonction de la position trophique du poisson (Bloom, 1992). Par contre chez les invertébrés tel que les mollusques bivalves filtreurs par exemple, la part du MeHg par rapport au Hg total est comprise entre 20 et 80% (RNO, 1999). La mesure du Hg total dans les tissus de ces organismes ne permettrait donc pas une évaluation directe de la conformité à la NQE si celle-ci était exprimée en MeHg.

---

<sup>4</sup> Guide technique européen pour définir les normes de qualité environnemental, en cours de préparation par Comité Scientifique sur la Toxicité, l'Ecotoxicité et l'Environnement (CSTEE).

La NQE biote proposée pour le mercure total (20 µg/kg poids frais, PF) semble très faible si on retient les poissons comme support analytique par rapport aux concentrations mesurées dans les milieux aquatiques, même peu impactés par des apports anthropiques directs. Jusqu'à présent, en l'absence d'un seuil environnemental (NQE biote), les données de concentration en Hg obtenues dans les organismes aquatiques ont généralement été comparées aux seuils établis pour la santé humaine. Par exemple, les concentrations maximales admissibles de mercure dans les produits piscicoles consommés par l'homme sont de 500 µg/kg (PF), sauf pour les espèces piscicoles omnivores et carnivores (p.ex., *Anguilla* spp., *Esox lucius*) pour lesquelles ce seuil est de 1000 µg/kg (PF) (EC, 2001).

La très large différence entre la NQE biote et la concentration maximale admissible dans les poissons peut sembler surprenante, mais elle s'explique par le fait que ces deux seuils sont dérivés en suivant un objectif et donc une méthodologie différente (santé environnementale pour la NQE, santé humaine pour le seuil de consommation de la réglementation européenne de 2001). Ainsi, une étude récente réalisée en France par Lochet *et al.*, 2008 montre que les concentrations en Hg total mesurées dans le muscle, le foie et les reins chez deux espèces piscicoles, *Alosa alosa* et *Alosa fallax*, prélevées dans la Garonne (proche de l'estuaire de la Gironde) dépassent largement la NQE biote (44 µg/kg PF muscle, 284 µg/kg PF foie et 196 µg/kg PF rein (valeurs médianes). Alors qu'il est clair que ces valeurs sont rarement supérieures au seuil sanitaire fixé à 500 µg/kg (PF) pour cette espèce.

### 2.1.2 Contaminants recherchés

Le choix du biomoniteur dépend également des contaminants recherchés car les voies de contamination sont variables (voir le tableau 1 pour les différents voies de contamination des organismes abordés dans la partie 3 de ce document). De plus, le processus de bioaccumulation des organismes dépend de mécanismes chimiques qui contrôlent la spéciation du contaminant en question et sa biodisponibilité (capacité à atteindre une cible biologique) et des caractéristiques écologiques (habitat, comportement trophique...) et biologiques (taille, mode de respiration...) des organismes.

On distingue le plus souvent la bioconcentration de la bioaccumulation. Le terme bioconcentration est le plus souvent réservé à la contamination d'un organisme par voie dissoute uniquement. Sous le terme bioaccumulation, sont considérées la contamination par voie dissoute et par voie trophique. La bioconcentration et/ou la bioaccumulation d'une substance est conditionnée par trois étapes : l'ingestion (l'absorption), la métabolisation et enfin l'élimination. L'absorption d'un contaminant se fait par voie orale (p.ex. la nourriture), voie respiratoire (p.ex. les branchies chez le poisson) et voie cutanée (p.ex. chez les mousses aquatiques ou par la cuticule chez certains insectes). Ensuite le contaminant est assimilé et distribué dans les différents tissus (i.e., les organes). Les fractions non utilisées ou non stockées par l'organisme sont ensuite éliminées par l'excrétion.

La toxicocinétique des contaminants ciblés est un élément important de sélection :

- 1) des organismes, dont certains disposent de mécanismes de métabolisation et de régulation plus ou moins performants (poissons *versus* bivalves par exemple),
- 2) des organes à analyser dans un organisme donné, selon que l'on s'intéresse à la contamination « générale » de l'organisme entier ou à la caractérisation du niveau maximal de contamination, en sélectionnant l'organe le plus accumulateur par exemple.

Certains contaminants s'accumuleraient plus facilement dans certains organes du poisson plutôt que dans d'autres. Kraemer *et al.* (2005) ont observé chez la perchaude *Perca flavescens* que le Cd s'accumulait dans les quatre organes principaux (branchies, foie, reins et intestins). En revanche le Cu est peu accumulé dans les reins et peu d'accumulation du Zn a été observée dans les reins et les branchies.

Dans le programme Mussel Watch (Kimbrough *et al.*, 2008), les concentrations des

contaminants organiques (i.e., les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les dichlorodiphényltrichloréthanés (DDT), les butylétains, et les dieldrines) chez les huîtres et les moules prélevées du milieu marin sont comparables sur les différents sites car ces organismes ont une capacité de bioaccumulation de ces contaminants très similaire. Par contre pour les métaux, les huîtres ont tendance à accumuler mieux le Zn et le Cu que les moules, alors que dans le cas du Pb et Cr la situation inverse est observée (plus d'accumulation chez les moules).

**Tableau 1 : Principales voies de contamination de différents organismes aquatiques**

<b>Organismes</b>		<b>Voie de contamination</b>
Bryophytes	<i>Fontinalis antipyretica</i>	Adsorption et absorption des contaminants dans la phase dissoute
- Mousses aquatiques	<i>Rhynchostegium riparioides</i>	Les organismes sont exposés aux matières en suspension (MES) dans la colonne d'eau
	<i>Cinclidotus sp</i>	
Macroinvertébrés	<i>Dreissena polymorpha</i>	Voie dissoute (filtration, respiration)
- Mollusques bivalves	<i>Corbicula fluminea</i>	Voie trophique
	<i>Anodonta cynea</i>	MES provenant de la surface de la colonne d'eau ou des sédiments
- Larves insectes	<i>Chironomus riparius</i>	Interface eau-sédiment
- Crustacés	<i>Gammarus pulex</i>	Voie dissoute et MES provenant de la colonne d'eau et des sédiments
Ichthyofaune	<i>Anguilla anguilla</i> (stade jaune)	Voie respiratoire (contaminants dissous – particules des sédiments remises en suspension)
	<i>Perca fluviatilis</i>	
	<i>Abramis brama</i>	
	<i>Blicca bjoerkna</i>	Voie trophique : adsorption des contaminants provenant des MES, des sédiments, ingestion de végétaux, d'invertébrés ou/et de petits poissons
	<i>Barbus barbus</i>	
	<i>Leuciscus cephalus</i>	
	<i>Rutilus rutilus</i>	

### 2.1.3 Les stratégies d'échantillonnage

Les stratégies d'échantillonnage envisagées ici sont d'une part, la surveillance passive : prélèvement des organismes résidant dans le milieu ; et d'autre part, la surveillance active : prélèvement des organismes sur un site (i.e., site de référence de préférence), encagement des organismes puis transplantation sur les sites d'étude.

La surveillance passive est utilisée pour le suivi temporel des contaminants. La surveillance active semble choisie de préférence pour le suivi spatial ; elle est aussi utilisée quand un organisme ciblé par l'étude n'est pas présent sur un site donné. Les organismes choisis pour la transplantation en cage doivent être suffisamment robustes pour supporter une transplantation d'un site à un autre. La transplantation des bryophytes et des mollusques bivalves est bien connue et documentée. L'encagement des poissons existe aussi mais pour des études ponctuelles ou de courte durée.

## 3 Etudes sur le biote aquatique : les méthodes d'échantillonnage appliquées et les micropolluants recherchés

### 3.1 Mousses aquatiques

Depuis trente ans, les scientifiques s'intéressent aux mousses aquatiques (bryophytes) en tant que candidates pour la surveillance des contaminations métalliques dans les cours d'eau (p.ex. France, Italie, Royaume-Uni). Les différentes études et méthodologies utilisées sont présentées dans l'annexe 1. Ces macrophytes non-vasculaires éliminent plus lentement les métaux tels que le cadmium qu'ils ne les accumulent (Croisetière *et al.*, 2005). Le mode de contamination se fait par adsorption et absorption au niveau des feuilles (Cenci, 2000; Tipping *et al.*, 2008) (Cf. Tableau 1). De plus, leur capacité à accumuler les métaux est plus importante que celle des sédiments (André et Lascombe, 1987). Organismes sédentaires, leur stabilité les rend particulièrement utiles pour localiser une source de pollution métallique. La facilité d'échantillonnage rend ce biomoniteur idéal pour les préleveurs et les analyses en laboratoire (André et Lascombe, 1987).

#### 3.1.1 La stratégie d'échantillonnage à privilégier

Le prélèvement des mousses autochtones pour la surveillance passive est une stratégie utilisée par les Agences de l'eau dans les réseaux de suivi. Les populations doivent être stables et abondantes. Sur certains bassins, l'espèce recherchée peut être rare voire même absente (Cf. partie 4.1). Il devient alors utile de recourir aux mousses encagées. Ces dernières sont aussi particulièrement intéressantes pour la surveillance active (à court terme, Mersch *et al.*, 1993), ainsi que pour l'identification des sources de pollution (Claveri *et al.*, 1994 ; Cesa *et al.*, 2006 ; LAEPS, 2006).

La durée de l'exposition des bryophytes encagées dépend du type d'étude. Pour mesurer une contamination juste en aval d'un rejet, la durée d'exposition ne devrait pas dépasser 14 jours ; pour localiser la source d'une pollution la durée d'exposition recommandée est plus longue, entre 15 et 21 jours ; enfin pour étudier une incidence de contamination et si les conditions du milieu sont favorables, le temps d'immersion peut aller jusqu'à 1 mois voire 6 semaines maximum (André et Lascombe 1987 ; AE, 2006 ; LAEPS, 2006). Il faut entretenir les cages régulièrement (1 à 2 fois par semaine) et toujours après des précipitations importantes. Enfin, il convient de choisir des endroits discrets, à l'écart des endroits fréquentés, afin d'éviter le vandalisme qui reste important.

#### 3.1.2 Les différentes espèces utilisées

Pour une surveillance active ou passive, le choix de l'espèce de mousse aquatique dépend principalement de son abondance sur les sites de prélèvement. En raison de leur large répartition géographique et de leur capacité à accumuler les métaux, les deux espèces les plus fréquemment utilisées sont *Fontinalis antipyretica* (Bruns *et al.*, 1997 ; Cenci, 2000 ; Samecka-Cymermana *et al.*, 2002 ; Ah-Peng, 2004 ; Bleuel *et al.*, 2005 ; LAEPS, 2006) et *Rhynchostegium riparioides* (syn. *Platyhypnidium riparioides*) (Samecka-Cymerman *et al.*, 2002 ; Cesa *et al.*, 2006). Il faut souligner ici qu'une autre étude réalisée à la même époque a mis en évidence la faible capacité de bioaccumulation de *F. antipyretica* (André et Lascombe, 1987) par rapport aux autres espèces.

Il est intéressant de remarquer que l'espèce *Cinclidotus* sp., provenant de la rivière Saône, a été privilégiée par Mouvet *et al.* (1985) pour les analyses des PCB dans la Durance. En effet, *F. antipyretica* et *R. riparioides* ; deux des espèces les plus utilisées pour les analyses métalliques, ont posé des difficultés lors de la préparation pour la chromatographie en phase gazeuse.



Dans d'autres études, les macrophytes les plus souvent utilisés en raison de leur abondance dans la nature sont *Hygrohypnum ochraceum* (Claveri *et al.*, 1995) et *Scapania* sp. (Samecka-Cymermana *et al.*, 2002 ; Vincent *et al.*, 2001 ; Tipping *et al.*, 2008). Pour les bassins français, les espèces recommandées pour le suivi des micropolluants sont mentionnées dans le Tableau 2. Pour plus de détails, voir l'annexe 1.

### 3.1.3 Les paramètres d'échantillonnage

Il n'existe pas de norme pour l'échantillonnage des mousses aquatiques. Par contre beaucoup d'études ont été réalisées par les Agences de l'eau et par Mouvet *et al.* (par exemple, Mouvet *et al.*, 1986). Ces études ont permis la mise au point des guides techniques du prélèvement d'échantillons des mousses autochtones et allochtones par les Agences de l'eau (AE, 1998 ; AE, 2006).

**Tableau 2 : Méthodologies recommandées pour l'utilisation des mousses aquatiques\***

<b>Espèces à favoriser</b>	<i>Fontinalis antipyretica</i> <i>Rhynchostegium riparioides</i> (syn. <i>Platyhypnidium riparioides</i> ) <i>Cinclidotus riparius</i> <i>Cinclidotus danubicus</i>
<b>Choix de l'espèce</b> (par ordre de préférence) <i>Nota : une seule espèce est recommandée pour un même bassin (les capacités d'accumulation entre espèces peuvent varier)</i>	1) <i>F. antipyretica</i> 2) <i>R. riparioides</i> 3) <i>C. riparius</i> 4) <i>C. danubicus</i> Lorsqu'il est difficile d'utiliser une seule espèce, les associations suivantes sont possibles : 1) <i>F. antipyretica</i> et <i>R. riparioides</i> 2) <i>C. riparius</i> et <i>C. danubicus</i>
<b>Taille de l'échantillon</b> (par point de prélèvement)	Autochtone : ~20 à 30 g de PFE Allochtone : ~30 à 35 g de PFE
<b>Période de prélèvement</b>	Possible pendant toute l'année, attention néanmoins aux périodes d'étiage et de crue prononcées Favoriser plutôt l'automne (octobre, novembre, décembre) et le printemps (avril, mai, juin)
<b>Technique de prélèvement</b>	Privilégier les endroits soumis à un courant continu (racines d'arbres, barrage, piles de pont au milieu du courant) Eviter de prélever les touffes exposées à une faible profondeur ou dans un habitat avec un faible renouvellement d'eau Enlever les apex (la partie plus jeune, voire une longueur entre 2 et 5 cm selon les espèces) de la touffe, sans détruire la mousse entière et à répéter en plusieurs points de prélèvements
<b>Fréquence de prélèvement</b>	1 fois par an
<b>Biomasse pour les analyses</b>	environ 2 g PS** (des brins)

\*AE, 1998 ; AE, 2005 ; AE 2006 ; PFE = poids frais essoré ; \*\*PSE = poids sec essoré

Les points principaux à prendre en considération pour le prélèvement des mousses autochtones pour analyses et pour la mise en cage sont détaillés dans le Tableau 2. Par ailleurs les méthodologies et paramètres de prélèvement pour les analyses chimiques pratiquées dans différentes études sont présentés dans l'annexe 1.

### 3.1.4 Exploitation des résultats pour les métaux

#### 3.1.4.1 Avant la DCE

La qualité des cours d'eau français est évaluée depuis 1971 à partir d'une grille de qualité dont les valeurs seuils sont regroupées en 5 niveaux (classes) représentés par des couleurs (bleu, vert, jaune, orange et rouge). Après la mise en place du réseau national de bassin (RNB<sup>5</sup>) au début des années 90, et afin d'harmoniser le système d'évaluation de la qualité (SEQ) des cours d'eau, les agences de l'eau ont mis en oeuvre un nouveau système plus élaboré qui conserve cette grille de classification. Il est basé sur les trois volets suivants : SEQ-Eau, SEQ-Physique et SEQ-Biologique. Le suivi des métaux dans les mousses aquatiques se trouve dans le premier volet (AE, 2003).

Le Tableau 3 présente une première grille qui indique les concentrations « repères » (ou de référence) déterminées pour huit métaux (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Cu et Zn) à partir des données obtenues dans les mousses autochtones provenant de sites non pollués de France, de Belgique et d'Angleterre (AE, 1997a ; Ah-Peng et Rausch de Traubenberg, 2004). La grille de qualité (Tableau 3) contient 4 seuils pour chaque métal, basés sur les concentrations « repères » (AE, 1997). Les seuils ont été calculés d'après les formules suivantes :

**Seuil 1 = concentration « repère » x 3**

**Seuil 2 = Seuil 1 x 2**

**Seuil 3 = Seuil 2 x 3**

**Seuil 4 = Seuil 3 x 2**

**Tableau 3 : Grille de qualité et l'interprétation des seuils de concentration métallique (mg/kg PS) dans les mousses aquatiques (d'après AE, 1998 ; AE, 2003)**

Métaux		Concentrations « repères »	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4	Classe 5
		<b>Seuils</b>	1	2	3	4	
<b>Arsenic</b>	<b>1,5</b>		4,5	9	27	54	
<b>Cadmium</b>	<b>0,4</b>		1,2	2,5	7	14	
<b>Chrome</b>	<b>5</b>		11	22	65	130	
<b>Cuivre</b>	<b>18</b>		33	66	200	400	
<b>Mercuré</b>	<b>0,06</b>		0,15	0,30	0,85	1,70	
<b>Nickel</b>	<b>9</b>		22	45	135	270	
<b>Plomb</b>	<b>9</b>		27	55	165	330	
<b>Zinc</b>	<b>75</b>		175	350	1050	2100	
<b>Interprétation des classes</b>			<b>Situation de référence</b>	<b>Pollution possible</b>	<b>Pollution certaine</b>	<b>Pollution forte</b>	<b>Pollution très forte</b>

<sup>5</sup> Pour plus de détails voir la partie 4 dans ce document

Les seuils sont regroupés en cinq classes afin de déterminer le niveau de la contamination métallique du site étudié. La classe 1, ou « situation de référence », indique une absence totale de contamination métallique. La classe 2, ou pollution possible, concerne un site faiblement contaminé ou dont la contamination n'est pas constatée. Les classes 3, 4 et 5 correspondent respectivement à une contamination certaine, forte et enfin très forte.

#### 3.1.4.2 Depuis la DCE

Utiliser les bryophytes pour appliquer les NQE biote pour la surveillance des métaux apparaît problématique. Selon l'AE-RM&C, la difficulté à déterminer des NQE biote est une des raisons principales pour laquelle les bryophytes ne sont plus considérées actuellement pour le suivi des métaux. Les calculs des NQE biote ciblent maintenant la protection des prédateurs secondaires (ainsi que la santé humaine) (EC, 2009<sup>6</sup>), et dans ce contexte, les mousses aquatiques ne permettraient pas de vérifier l'état chimique du milieu. Cependant, les programmes de suivi des métaux dans les bryophytes ont montré leur utilité dans certains bassins, pour évaluer l'état chimique par la surveillance des tendances temporelles ou géographiques des concentrations (AE, 1997b ; RNDE, 1999 ; LAEPS, 2006).

Par contre, dans l'arrêté du 30 juin 2005 (MEDD, 2005) relatif au programme national d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses, les mousses aquatiques sont recommandées, parmi d'autres matrices, pour le suivi des métaux et du phénanthrène.

#### 3.1.5 Un outil intéressant pour la surveillance des micropolluants autre que les métaux ?

L'accumulation des hexachlorocyclohexanes (HCH) et des PCB a été étudiée dans les tributaires du Rhône (la Saône et la Durance) ainsi que dans la Seine (Mouvet *et al.*, 1985 ; Mouvet *et al.*, 1986b). L'espèce *C. danubicus* encagée a été sélectionnée pour ces études. Cette mousse aquatique a été privilégiée vis à vis d'autres espèces, également en abondance dans les cours d'eau, à cause de sa facilité à être utilisée pour l'analyse chimique des PCB. En effet, la méthode d'extraction ne fonctionnait pas très bien avec les espèces *F. antipyretica* et *R. riparioides*.

Plus récemment, dans le cadre du programme « Pollution par les PCB » pour le suivi des PCB dans le bassin Rhône-Méditerranée, une étude a été réalisée par la DIREN Rhône-Alpes, l'Agence de l'eau RM&C et le Cemagref de Lyon. Avec l'emploi des mousses aquatiques autochtones ou transplantées ainsi que les capteurs passifs (i.e., SPMD, « semi-permeable membrane device »), les concentrations en phase dissoute des PCB (18 congénères) ont été évaluées dans le Rhône depuis Genève jusqu'à la mer. Les résultats ont été comparés avec une étude similaire menée entre 1988 et 1992 dans l'Ain (C. Bourg, DIREN Rhône, communication personnelle). La comparaison a été très délicate car les données de l'étude historique étaient peu exploitables en raison des valeurs de concentration inférieures ou proches du seuil de détection. De plus, dans l'étude la plus récente, les analyses ont porté sur 18 congénères des PCB. Du fait des faibles concentrations détectées (légèrement supérieures à 2 µg/kg PS), la somme des PCB n'a pas pu être effectuée, ni comparée entre les sites. Les données de l'étude historique portent quant à elles sur les PCB totaux.

En revanche, les PCB 153 et PCB 138 ont été mesurés de manière constante et régulière dans la plupart des échantillons. Pour les concentrations en PCB 153, une augmentation a été observée dans les bryophytes autochtones du Rhône de l'amont vers l'aval (3,8 µg/kg PS à Pougny, près de Genève, et environ 25 µg/kg PS à Arles). Pour les concentrations dans les bryophytes transplantées dans les affluents du Rhône, une augmentation sur

---

<sup>6</sup> Guide technique européen pour définir les normes de qualité environnemental, en cours de préparation par Comité Scientifique sur la Toxicité, l'Ecotoxicité et l'Environnement (CSTEE).

certain sites a été observée au cours des quatre mois d'exposition (p.ex. sur le Gier : de 2,5 à 10,5 µg/kg PS et sur la Cance : de 3,3 à 7,9 µg/kg PS). Il est intéressant de remarquer qu'une concentration maximale pour le PCB 153 de 28,4 µg/kg PS a été mesurée dans les bryophytes exposées durant deux mois sur le site « Nant d'avril ». Par contre au cours du 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> mois (après le nettoyage de la surface des échantillons), les concentrations mesurées sont redescendues à 8,5 µg/kg PS.

### 3.1.6 Avantages et inconvénients

Les mousses aquatiques sont utilisées en tant que biomoniteur pour le suivi des métaux depuis de nombreuses années. Même si ces organismes ne conviennent pas au suivi du respect des NQE biote, il serait dommage de ne plus profiter d'une méthodologie bien connue et reconnue pour les métaux notamment. Indigène ou encagée, elles restent un biomoniteur potentiel pour la surveillance temporelle et spatiale dans certains bassins français. Des études récentes ont montré qu'elles sont également un outil fiable pour l'évaluation des métaux biodisponibles tels que le cuivre (Ferreira *et al.*, 2008, 2009). De plus, elles sont cultivables en laboratoire pour les transferts ultérieurs (Ah-Peng, 2003).

Un facteur contraignant concerne la procédure d'élimination des particules de la surface des mousses avant de procéder à leur analyse. En général, cette étape de préparation des échantillons est très longue car il est nécessaire de rincer soigneusement les plantes (avec de l'eau collectée sur le site, et de nouveau au laboratoire avec de l'eau déionisée (p.ex. mono- ou bi-distillée)) et de bien vérifier l'absence de particules qui pourraient fausser les résultats de concentration (cf. annexe 1).

## 3.2 Macroinvertébrés

Les macroinvertébrés aquatiques d'eau douce, en particulier les mollusques bivalves, sont bien connus pour le suivi de la contamination chimique, qu'il s'agisse de mesures de biomarqueurs (changements observés ou mesurés au niveau infra-organisme et qui indiquent une déviation de l'état normal de la santé des organismes) ou d'analyses chimiques. Le tissu utilisé pour les analyses est en général la partie molle pour les bivalves et le corps entier pour les organismes plus petits.

En milieu marin, les bivalves sont utilisés depuis plus de 30 ans, en particulier dans des réseaux de surveillance (Réseau national d'observation, RNO, 1996). En milieu continental ils sont également utilisés, mais de manière moins fréquente et systématique. L'utilisation d'autres organismes pour le suivi des concentrations des contaminants, par exemple des larves d'insectes, est quant à elle plus récente.

Cette partie aborde les généralités sur différentes espèces de macroinvertébrés et décrit quelques exemples de leur utilisation pour la surveillance chimique. Des informations détaillées sur les méthodologies d'échantillonnage sont présentées pour certaines espèces dans les annexes 2 et 3.

### 3.2.1 Les espèces les plus fréquemment utilisées

#### 3.2.1.1 Mollusques bivalves

***Dreissena polymorpha*** (la dreissène ou moule zébrée) est un mollusque bivalve invasif des eaux douces en Europe et en Amérique du Nord. En France, cette espèce se retrouve dans les eaux stagnantes telles que le lac Léman (Gerdeaux *et al.*, 1995 ; Corvi *et al.*, 2005 ; Berny *et al.*, 2002), et les cours d'eau comme la Seine (Chevreuil *et al.*, 1996) et son estuaire (Minier *et al.*, 2006). On la trouve aussi dans les cours d'eau de l'Est de la France (p.ex., Rhône, Saône, Moselle).

Cet organisme filtreur fixé sur divers supports immergés (roches, plantes, piliers de pont...) est contaminé à la fois par voie respiratoire et par voie alimentaire, en particulier par les

particules minérales ou organiques des matières en suspension. La filtration est donc un mécanisme très important pour leur survie et peut être influencée par différents facteurs tels que la taille des particules, la concentration de l'oxygène dissous, la température, la concentration de la matière en suspension et l'abondance de nourriture (p. ex., phytoplancton).

Par ailleurs, des concentrations élevées en certains micropolluants dans l'eau (p. ex., > 40 µg/L Cu) peuvent avoir un effet direct sur l'activité de filtration chez cette espèce (Mersch *et al.*, 1993b) et donc sur sa capacité de bioaccumulation et de bioconcentration (Chevreuil *et al.*, 1996).

Du fait de ses caractéristiques (recensées ci-dessous), la dreissène s'avère être un bon support analytique pour la surveillance chimique (Gerdeaux *et al.*, 1995 ; Chevreuil *et al.*, 1996 ; Hendriks *et al.*, 1998 ; Wagner *et al.*, 2003) ; en effet elle est :

- sédentaire au stade adulte,
- largement présente en Europe dans les parties basses des cours d'eau (sauf dans les régions extrêmement froides ou chaudes),
- facile à prélever et à manipuler,
- résistante aux diverses pollutions,
- elle présente une longue durée de vie (entre 4 et 5 ans),
- elle filtre les substances dissoutes ainsi que celles adsorbées sur des particules en suspension,
- elle présente un taux important de filtration, favorable pour la bioaccumulation des micropolluants organiques et inorganiques.

Il est intéressant de remarquer qu'une grille de qualité (Tableau 4) pour évaluer les concentrations des métaux observées chez *Dreissena polymorpha* a été développée dans le cadre d'une étude sur le bassin de la Moselle (Mersch, 1993a), et est appliquée par le programme franco-suisse CIPEL pour comparer les données recueillies pour les métaux mesurés dans le lac Léman (Corvi *et al.*, 1996 ; 2005).

**Tableau 4 : Grille de qualité développée pour l'interprétation des concentrations des métaux détectées chez *Dreissena polymorpha* (d'après Mersch, 1993a et Corvi *et al.*, 1996)**

Métaux (µg/g)	Classe de qualité			
	1 Absence de pollution	2 Situation intermédiaire	3 Pollution certaine	4 Pollution importante
Cadmium	≤ 1	1 – 2,5	2,5 – 8	> 8
Chrome	≤ 1	1 – 3,5	3,5 – 10	> 10
Cuivre	≤ 12	12 – 45	45 – 80	> 80
Nickel	≤ 12	12 – 45	45 – 100	> 100
Plomb	≤ 0,5	0,5 – 4	4 – 14	> 14
Zinc	≤ 110	110 – 220	220 – 400	> 400

L'espèce ***Corbicula fluminea*** (palourde asiatique) partage des caractéristiques similaires à la dreissène (Cf. ci-dessus). Elle se distingue par son habitat différent : elle se trouve généralement légèrement enfouie sous la surface des sédiments. Comme la dreissène, elle se nourrit principalement par voie de filtration de matières en suspension provenant de la colonne d'eau (Marie *et al.*, 2006). Le stade adulte est atteint lorsque la palourde mesure entre 6 et 10 mm ; sa durée de vie est comprise entre 1 et 4 ans (Foster *et al.*, 2009).

En Europe, jusqu'à présent, l'utilisation de cette espèce en tant que support analytique pour la surveillance chimique est peu documentée. Cependant il existe des études portant sur la bioaccumulation et sur le cycle biologique de cette espèce (Cf. annexe 2), par exemple au Portugal (Sousa *et al.*, 2008 ; Martins *et al.*, 2009). En France, *C. fluminea* a été utilisée pour des études de suivi de biomarqueurs et de bioaccumulation (Andrés *et al.*, 1999 ; Marie *et al.*, 2006 ; Bigot *et al.*, 2009). Enfin, aux Etats-Unis, dans les années 90, les populations sauvages ont été particulièrement ciblées par le programme de surveillance américain NAWQA (Crawford et Luoma, 1994 ; voir aussi la partie 4.1.8 de ce document), qui a montré que cette espèce est un bon biomoniteur potentiel.

L'espèce ***Anodonta cygnea*** (anodonte du cygne) est un bivalve indigène en Europe qui préfère les eaux calmes (plans d'eau) et s'enfouit dans des sédiments riches en matière organique (Cucherat, 2003). Ce bivalve est utilisé notamment dans les études de toxicité pour le suivi des contaminants tels que les métaux et les pesticides (Kegley *et al.*, 2009). La mise en cage est possible et a été réalisée dans plusieurs études, notamment en France (Robillard *et al.*, 2003).

#### 3.2.1.2 Autres macroinvertébrés

La liste d'autres invertébrés potentiellement intéressants en tant que support analytique pour la surveillance chimique est longue. Dans ce rapport de synthèse, deux exemples ont été choisis, l'insecte diptère *Chironomus riparius* et le crustacé *Gammarus pulex*, illustrant la diversité des voies d'exposition possibles aux contaminants des organismes aquatiques.

***Chironomus riparius***. Les larves des insectes sont intéressantes pour le suivi des contaminants car elles passent la période de stade larvaire à l'interface eau-sédiment des eaux douces. Un exemple bien connu est *Chironomus riparius* (chironome). Vivant étroitement en contact avec la surface des sédiments et l'eau interstitielle, les larves de chironome sont en permanence exposées aux micropolluants en phase particulaire et dissoute. Due à leur abondance dans les milieux continentaux en Amérique du Nord et en Europe, ainsi qu'à leur importance dans la chaîne alimentaire, les larves de chironome pourraient constituer une matrice intéressante pour la surveillance chimique (Cf. annexe 3).

Généralement les larves se retrouvent dans les 2 premiers centimètres des sédiments pour des plans d'eau et les cours d'eau de plus de deux mètres de profondeur (Bonnet, 2000). Elles se nourrissent de la matière organique en décomposition et des petites particules sédimentaires (Faria *et al.*, 2007). Il est à noter que les larves de cet insecte diptère sont plus particulièrement utilisées pour les tests de toxicité normalisés (AFNOR, 2004) afin d'évaluer la qualité des sédiments et très peu pour les tests de bioaccumulation (USEPA, 2000).

Remarque : Les oligochètes (p. ex., *Lumbriculus variegatus*), un groupe d'invertébrés très intéressant et jouant un rôle important dans les réseaux trophiques, mais qui n'est pas abordé en détail dans ce document, sont plus souvent ciblés pour évaluer l'accumulation des contaminants (métalliques et organiques) à l'interface eau/sédiments.

Connaître le cycle de vie de *C. riparius* est essentiel pour son utilisation dans le cadre de la surveillance passive et active des contaminants. Avec une durée de vie de 28 à 49 jours, selon les paramètres de l'environnement, c'est une espèce holométabole dont le cycle se déroule en quatre stades de développement (Environment-Canada, 1997 ; Bonnet, 2000 ; AFNOR, 2004) : l'œuf, la larve, la puppe (la nymphe), et l'adulte (l'imago).

**Tableau 5 : Sous-stades larvaires de *Chironomus riparius*, distingués par la taille de leur capsule céphalique et autres attributs morphologiques\*.**

Stade larvaire	Taille de la capsule céphalique (mm)	Autres changements morphologiques	
Colonne d'eau	1 <sup>er</sup> stade	0,07 - 0,12	Corps entier blanc crémeux Antennes et mandibules présentes 3 segments thoraciques 9 segments abdominaux
Sédiments	2 <sup>ème</sup> stade	0,13 - 0,24	Corps entier qui devient rose dû à la production d'hémoglobine Branchies ventrales visibles sur le 8 <sup>ème</sup> segment abdominal
	3 <sup>ème</sup> stade	0,26 - 0,40	Corps entier rouge vif
	4 <sup>ème</sup> stade	0,43 - 0,60	La tête devient brun jaunâtre et les ocelles noircissent

\* Sources : Environment Canada, 1997 ; Bonnet, 2000

Le stade larvaire, qui est celui d'intérêt ici car plus long par rapport aux autres et directement en contact avec le sédiment, consiste en quatre sous-stades (Tableau 5). Ces différents stades se différencient par la taille (mm) de la capsule céphalique (tête) de la larve et chacun a une durée de 2 à 7 jours.

Plusieurs facteurs environnementaux ont un effet sur la durée de leur cycle de vie et sur le processus de bioaccumulation, ce sont : la nourriture, la température, la granulométrie des sédiments et le rapport carbone/azote.

De nombreuses études sur les larves encagées (*in situ*) sont documentées, par contre les dispositifs expérimentaux diffèrent selon les objectifs des études. On peut distinguer deux types de dispositif selon la manipulation des sédiments et des organismes. Pour le premier, les sédiments sont prélevés, tamisés pour éliminer les organismes endobenthiques indigènes puis remis dans des contenants qui sont alors placés dans le milieu naturel avant l'introduction des organismes (Meregalli *et al.*, 2000; Bervoets *et al.*, 2004a). Les systèmes de 2<sup>ème</sup> type ressemblent à des carottes de sédiments où les organismes élevés en laboratoire ou prélevés sur un site de référence sont ajoutés à la surface du sédiment non déstructuré (Ferrari *et al.*, 2008).

En général, les larves sont introduites dans les cages au cours de leur 2<sup>ème</sup> stade larvaire. La détermination de la quantité de contaminants bioaccumulés (le plus souvent des métaux) est effectuée au 4<sup>ème</sup> stade larvaire (Bervoets *et al.*, 2004a), afin d'avoir une quantité de tissu à analyser suffisante. Dans ce type d'expérimentation, il a été observé que le taux d'oxygène dissous diminuait dans les cages et semblait avoir une influence sur la biodisponibilité des métaux. Il est recommandé de bien définir la taille des mailles des filets utilisées autour des cages pour empêcher les organismes de s'échapper et également éviter la prédation par d'autres organismes aquatiques. Les stratégies d'échantillonnage des larves de *C. riparius* pour mesurer les concentrations de métal bioaccumulé sont détaillées dans l'annexe 3.

***Gammarus pulex***, le gammare, crustacé amphipode détritivore, est un organisme modèle intéressant pour étudier les impacts des contaminants sur les milieux dulçaquicoles. Cet organisme est utilisé en laboratoire ou *in situ*, soit sur des organismes autochtones, soit sur organismes encagés. Une méthodologie a été développée récemment au Cemagref de Lyon et mise en application (Garric et Geffard, 2007a). Comme les larves de *C. riparius*, *G. pulex* peut être utilisé en tant que support analytique pour les études de bioaccumulation et

biodisponibilité, en particulier pour les métaux. Par contre, son utilisation dans un réseau de suivi est encore peu documentée.

### 3.2.2 Paramètres d'échantillonnage des mollusques bivalves

Contrairement aux mousses aquatiques, l'échantillonnage des macroinvertébrés ne semble pas aussi « standardisé » ou adapté pour le suivi des contaminations en France, exception faite de la dreissène.

Les méthodes d'échantillonnage pratiquées pour la dreissène dans les différentes études sont présentées en annexe 2. On peut constater que la gamme de taille des individus à cibler peut varier entre 15 et 20 mm pour cette espèce.

En général, quelle que soit l'espèce de bivalve, un minimum de 50 à 100 individus est prélevé par site, et la surveillance passive est favorisée en tant que stratégie d'échantillonnage. Pour la surveillance active, les individus sont le plus souvent prélevés sur un site de référence (ou non contaminé) et ensuite répartis en trois cages (une vingtaine d'individus par cage) par site. Les périodes de prélèvement les plus favorables sont situées à la fin de l'été ou au début de l'automne (en dehors de la période de reproduction qui se situe généralement entre mai et août) (Wagner *et al.*, 2003). Le Tableau 6 résume les recommandations d'échantillonnage des différents mollusques bivalves dulçaquicoles avec ceux utilisés dans le cadre du programme de surveillance OSPAR pour les milieux marins.

**Tableau 6 : Recommandations d'échantillonnage des mollusques bivalves du milieu continental, comparaison avec le milieu marin**

Paramètres d'échantillonnage	<i>Dreissena polymorpha</i> <sup>1</sup>	<i>Corbicula fluminea</i> <sup>2</sup>	<i>Anodonta cygnea</i> <sup>5</sup>	<i>Mytilus edulis</i> <i>M. galloprovincialis</i> (milieu marin) <sup>6</sup>
Taille de l'échantillon (par point de prélèvement)	1 échantillon = 1 composite de 50 individus minimum 3 composites de 10 à 25 individus	Métaux : 1 échantillon = 3 composite* de 10 individus (5 g à 10 g PF) Contaminants organiques : 1 échantillon = 1 composite de 50 individus (50 g PF)	3 composites de 5 individus	50 individus/échantillon (surveillance spatiale) 3 lots de 20 individus (surveillance temporelle)
Période du prélèvement	Début automne Printemps/début été	Printemps / début été	Début automne	Fin automne / début hiver (état physiologique stable ; en tout cas avant la période de reproduction)
Taille des individus (mm) : longueur des coquilles	15 – 20	5 – 15 <sup>3</sup> 10 – 50 15 – 20 <sup>4</sup>	100 - 150	30 – 60
Fréquence de prélèvement	Différente pour chaque étude, dépend du programme de surveillance			trimestrielle

(1) Richman et Somers, 2005 ; Hendriks *et al.*, 1998 (2) Crawford et Luoma, 1994 (3) Croteau *et al.*, 2004 (4) Andrés *et al.*, 1999; Marie *et al.*, 2006 (5) Herve *et al.*, 2002; Robillard *et al.*, 2003 (6) OSPAR, 1999



Dans le cadre d'un programme de surveillance Finlandais, portant sur le réseau de suivi national sur le bassin Kymijoki (Herve *et al.* 2001), des anodontes (*Anodonta cygnea*) ont été utilisées. Les organismes ont été transplantés depuis des sites « propres » vers des sites présentant différents niveaux de contamination (Herve *et al.*, 2002). Les anodontes vivant principalement dans les sédiments les informations recueillies sont représentatives de la phase sédimentaire. Des informations sur l'historique de la pollution peuvent également être obtenues, mais ceci dépend avant tout de l'âge des bivalves et du taux de sédimentation au niveau du plan d'eau concerné.

### 3.2.3 Avantages et inconvénients

La plupart des mollusques bivalves d'eau douce présentent des avantages permettant aux réseaux de suivi et aux centres de recherches de les utiliser pour le suivi des contaminants, en particulier les métaux, et éventuellement certains composés organiques (p. ex., PCBs, p,p'-DDE, HCB,...) (Tableau 7). L'utilisation de différentes espèces est due en particulier à leur localisation dans les masses d'eau (p. ex., la dreissène *Dreissena polymorpha* est une espèce plus exposée à la colonne d'eau, alors que la palourde asiatique *Corbicula fluminea* est plutôt benthique). Par ailleurs, la dreissène et la palourde asiatique sont des espèces invasives. Par exemple, dans le bassin Artois-Picardie, la dreissène est particulièrement présente, au point qu'elle empêche la fermeture des écluses. Favoriser les espèces indigènes (p. ex., *Anodonta cygnea*) sera intéressant, surtout pour la transplantation. Par contre, il existe très peu d'études en France permettant de valider l'utilisation de ces espèces dans le cadre d'une surveillance chimique des masses d'eau. Il s'agira notamment de savoir si ces espèces sont représentatives des sites où elles sont prélevées ou si les populations sont assez grandes pour supporter des pressions de prélèvement inhérentes à de tels suivis.

Les autres invertébrés, tels que les chironomes et les gammare, sont intéressants pour le suivi de la contamination par les métaux, en raison notamment de leur voie d'exposition à ces contaminants (i.e., interface eau-sédiment). Malgré leur utilisation dans de nombreuses études écotoxicologiques, notamment pour le développement ou la validation de biomarqueurs, peu d'études existent sur leur utilisation en terme de surveillance chimique.

**Tableau 7 : Grille des avantages et des inconvénients de l'utilisation de différents macroinvertébrés selon les critères de choix d'un organisme sentinelle**

Critères	MZ	CF	AC	CR	GP
Abondants/présents tout au long de l'année	+++	+++	++	?	?
Faciles à identifier	+++	+++	?	+	+
Faciles à prélever	+++	+++	?	++	?
Suffisamment gros et nombreux pour les analyses chimiques	+++	++	+	+	?
Robustes vis-à-vis des contaminants et de la transplantation dans les cages	+++	+++	?	++	++
Cycle de reproduction	+	+	+	+++	+++

MZ = moule zébrée (la dreissène) ; CF = palourde asiatique ; AC = anodonte du cygne ; CR = chironome ; GP = gammare

+++ très avantageux (favorable); ++ moyennement avantageux ; + peu avantageux ; ? peu d'information

### 3.3 Ichthyofaune

L'utilisation des espèces piscicoles (ichthyofaune), en particulier celles consommées par l'homme, est bien établie dans le cadre de la surveillance chimique. Les voies d'accumulation des contaminants par les poissons sont multiples : l'alimentation (algues, invertébrés, poissons), la respiration et la diffusion cutanée. C'est le cas pour les espèces pélagiques qui se maintiennent dans la colonne d'eau. Les espèces benthiques sont exposées, en plus des éléments précédemment décrits, aux matières en suspension (MES) au niveau de l'interface sédimentaire. D'une manière générale, une espèce piscicole idéale en tant que support analytique devrait présenter les caractéristiques générales suivantes lors du choix des espèces :

- ne pas être en voie de disparition,
- être abondante et ubiquiste,
- sa physiologie est connue et est relativement simple,
- facile à identifier lors des prélèvements.

Dans cette partie, des critères plus spécifiques à considérer sont abordés ; puis les espèces piscicoles les plus intéressantes pour la surveillance chimique sont présentées. Les diverses études et méthodologies d'échantillonnage sont quant à elles résumées dans les annexes 4 et 5.

#### 3.3.1 Les critères plus spécifiques à considérer

Lorsqu'on compare les études et les programmes de surveillance dans les différents bassins, le choix de l'espèce sentinelle dépend essentiellement des critères décrits précédemment (i.e., mobilité, capacité de bioaccumulation, abondance,...). Au préalable, il convient cependant de se poser quelques questions à propos des objectifs du programme de suivi :

- *Le programme couvre-t-il une aire géographique importante et quelles sont les espèces les mieux réparties sur une large échelle géographique ?*

Parfois, la composition en termes d'espèces est variable d'une région à une autre, alors que dans d'autres cas, on retrouve une espèce présente de façon homogène sur une large échelle géographique. Dans un pays comme les Etats-Unis, trouver une espèce représentative de toutes les rivières est impossible à cause des variations climatiques et des différences entre les zones géographiques. La France est probablement dans le même cas de figure du fait de la diversité de ses hydrosystèmes.

- *Quel compartiment du milieu souhaite-t-on surveiller ?*

Selon certains auteurs, le gardon (*Rutilus rutilus*) pourrait être un candidat potentiel si on s'intéresse à la surveillance au niveau de la colonne d'eau (Klein *et al.*, 2003 ; Geeraerts *et al.*, 2007). Pour avoir une idée d'une contamination dans la zone benthique ou au niveau des sédiments, les espèces potentielles seraient plutôt l'anguille européenne et la brème (*Abramis brama*).

Les différents facteurs qui influencent le choix d'une espèce sont répertoriés ci-après. Les espèces le plus souvent utilisées ainsi que les stratégies d'échantillonnage et d'analyse les plus fréquemment employées dans les études ou les programmes de suivi des micropolluants sont également brièvement décrits (Cf. annexes 4 et 5).

### 3.3.1.1 La mobilité

Dans le cadre d'un programme de surveillance où le poisson serait l'organisme sentinelle retenu, la mobilité devient un critère très important puisque le biomoniteur doit représenter le niveau de contamination ambiant du site où il est prélevé. De ce fait, les organismes migrateurs sont à éviter car ils pourraient fournir des informations fausses sur l'état chimique d'un lieu donné. Il est important de différencier et de cibler les espèces selon leur mode de migration. Connaître le cycle de vie de l'espèce sélectionnée et donc leur morphologie devient aussi un facteur essentiel. Par exemple, chez l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*), espèce catadrome<sup>7</sup>, il faut privilégier l'utilisation de l'anguille dans son cycle de vie « jaune ». Durant cette période de sa vie, elle est sédentaire en eau douce pour environ 10 ans avant de se transformer en anguille « argentée » et de migrer vers la mer des Sargasses.

### 3.3.1.2 Sensible à la contamination

Il faut une espèce robuste et peu sensible aux contaminants. Selon Crawford et Luoma (1994), la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), par exemple, est très sensible aux contaminants, en particulier les métaux.

### 3.3.1.3 Périodes d'échantillonnage

Le processus de bioaccumulation varie entre les espèces et selon divers facteurs (p. ex., biologiques, environnementaux). Chez les poissons ce phénomène dépend du cycle de la reproduction. Par exemple, juste avant la période de frai, la masse lipidique augmente et peut diminuer après. Il est donc recommandé d'organiser l'échantillonnage en période de repos sexuel (le plus souvent à la fin de l'été ou au début de l'automne en Europe).

### 3.3.1.4 Paramètres physiologiques

Les paramètres physiologiques à prendre en compte lors de l'échantillonnage ainsi que les méthodes d'analyse des résultats ne sont pas toujours homogènes entre les différents programmes de surveillance dans le milieu aquatique.

**Sexe :** Faut-il favoriser les femelles ou les mâles ? Pour la surveillance en milieu marin, il est fortement recommandé de prélever des individus de même sexe, si possible des femelles. En ce qui concerne le milieu continental, à l'exception notable d'une étude aux Pays Bas (van der Oost *et al.*, 1996), le sexe des individus ne semble pas être un facteur important à prendre en considération dans les différents programmes de surveillance et les études de suivi, et ce quelle que soit l'espèce ciblée (Maes *et al.*, 2008 ; Corvi *et al.*, 2005 ; Vithaya, 1998 ; Noppé, 1996).

Dans un programme de surveillance en Bavière (Allemagne) qui cible principalement les organochlorés et les métaux dans les tissus biologiques (des poissons et des mollusques bivalves), le sexe n'est pas un critère principal car tous les poissons, mâles ou femelles, sont utilisés pour l'analyse. De plus, les résultats accumulés depuis les années 90 montrent que le taux d'accumulation des contaminants organiques (PCB, HCB,...) est peu différent entre les deux sexes (van de Graaff, IFU, Bayern, communication personnelle).

**La taille et l'âge :** La taille et l'âge sont deux paramètres très importants. Ils déterminent la manière dont les données sont analysées et comparées. Il existe des programmes de surveillance qui analysent des échantillons ayant une taille comparable (Crawford et Luoma, 1994) et autres qui prennent en compte un âge similaire (OSPAR, 1999). Le choix de la tranche de taille et/ou de l'âge dépend, en général, du type de surveillance :

- Pour la surveillance temporelle, afin de réduire l'influence des variables naturelles, il est recommandé de classer les échantillons par tranche d'âge et ensuite par tranche de taille qui doit être limitée et constante pour chaque prélèvement et sur chaque site.

---

<sup>7</sup> Poisson qui effectue sa croissance en eau douce et qui migre vers la mer pour se reproduire

- Dans le cadre d'une surveillance spatiale, il faut classer les organismes par taille (OSPAR, 1999) afin de permettre une comparaison entre les sites en question.

Cependant l'âge permet de préciser l'historique de l'individu (p. ex., migration, périodes de reproduction,...). Cette information est souvent déterminée en examinant soit les otolithes, soit les écailles par scalimétrie.

### 3.3.1.5 La teneur en lipides

Connaître la teneur en lipides des espèces piscicoles par rapport aux concentrations des contaminants dans les tissus est très important afin d'analyser correctement les données de contamination. Par exemple, une truite d'arc-en-ciel avec un contenu de lipide, par rapport au corps entier, de 21% accumule davantage le pentachlorophénol et a un taux d'élimination plus bas qu'un individu de la même espèce présentant un contenu en lipide de 13% (Newman et Unger, 2003).

En général la teneur en lipide augmente avec la taille. Par exemple chez l'anguille et au-delà de 300 mm, la teneur lipidique est de plus en plus élevée. Ceci correspond certainement au stade de maturation, au développement sexuel et à l'apport de nourriture. Chez les anguilles plus de 600 mm les concentrations diminuent (Tapie *et al.*, 2006). On peut supposer qu'elles sont dans leur stage argenté où elles se préparent pour la reproduction et donc ne mangent plus (elles vivent sur leurs réserves).

La question de la normalisation des teneurs en contaminants par la teneur en lipides se pose (Hebert et Keenleyside, 1995). Elle semble importante quand une corrélation significative existe entre la concentration de contaminant et celle des lipides. En général la normalisation des lipides se fait en divisant la concentration du contaminant par la concentration de lipide (p. ex., la concentration des PCB / % lipide). Pourtant, il faut faire attention de ne pas baser ses conclusions seulement sur ce ratio. Un poisson avec un pourcentage de lipide faible, par rapport à un poisson ayant plus de matière grasse, pourrait être plus contaminé.

### 3.3.1.6 Organes à cibler

Chez le poisson, le choix d'un ou plusieurs organes peut être établi en fonction de différents critères :

- 1) privilégier la faisabilité (critère pragmatique),
- 2) privilégier la bioaccumulation.

Le muscle est par exemple plus facile à manipuler et les quantités sont suffisantes pour effectuer des analyses de contaminants différents. Muscles et foie sont des organes très accumulateurs, mais ce dernier ne produit pas toujours suffisamment de matrice pour les analyses. Les autres organes souvent retenus dans les études de bioaccumulation ou de toxicité sont les branchies, les intestins et les reins.

Le choix de l'organe à analyser dépend surtout des contaminants recherchés, des espèces ainsi que de leur taille<sup>8</sup>, de leur mode de vie et de leur stratégie de régulation des substances.

En général les programmes de surveillance environnementaux (Cf. partie 4) ciblent les muscles pour les contaminants hydrophobes, ainsi que les organes de stockage ou de détoxification tel que le foie pour la mesure des métaux (sauf le mercure) (Crawford et Luoma, 1994 ; Klein *et al.*, 2003).

Les exemples suivants montrent que les concentrations des contaminants varient dans les différents organes et que le choix des organes pour un programme de surveillance donné dépendra des études préliminaires réalisées sur les espèces et les sites en question :

---

<sup>8</sup> Sur les plus petits spécimens, on réalisera une analyse chimique à partir d'un homogénat obtenu à partir d'un organisme entier (Perceval, ONEMA, communication personnelle; voir aussi la partie 4.2)

- Chez *Perca flavescens* il a été établi que les concentrations de cadmium augmentent avec le temps dans différents organes (branchies, intestins et foie), alors que les concentrations de cuivre augmentent dans tous les organes sauf les reins (Kraemer *et al.*, 2005). Le zinc est pour sa part davantage présent dans les reins et les branchies.
- Durrieu *et al.* (2005) ont comparé l'accumulation des concentrations de quatre métaux (Cd, Hg, Cu, Zn) dans les organes (branchies, muscles, foie, reins) de huit espèces de poisson provenant de l'estuaire de la Gironde. En général, les concentrations des métaux sont très variables d'un organe à l'autre selon les espèces. Par ailleurs, les concentrations de cadmium sont plus élevées dans le rein du mulot (*Liza ramada*) et de l'anguille (*Anguilla anguilla*) (respectivement 72 et 34 µg/g de poids sec, PS), alors que chez toutes les autres espèces les concentrations mesurées dans le rein sont inférieures à 8 µg/g PS. Pour le mercure total chez *A. anguilla*, le niveau d'accumulation entre les différents organes est en moyenne similaire (0,6 µg/g PS), alors que chez *L. ramada*, les concentrations s'élevaient jusqu'à environ 3 µg/g PS dans le foie et 5 µg/g PS dans les reins.
- Bien que les concentrations des contaminants varient dans les différents organes, Roche *et al.* (2002) ont observé dans le lagon de Vaccarès en Camargue des concentrations d'organochlorés très élevées dans le foie de l'anguille (p. ex., des PCB, la somme de 22 congénères > 420 ng/g PS), et dans les muscles (p. ex., HCH > 130 ng/g PS). Buet *et al.* (2006) trouvent, dans la même région et pour la même espèce, des concentrations d'organochlorés plus élevées dans le foie que dans le muscle, sauf pour l'HCB, composé pour lequel les concentrations sont supérieures à 40 ng/g PS dans les muscles.
- Belpaire et Goemans (2007a) montrent avec *A. anguilla*, que le tissu musculaire est suffisant pour mesurer non seulement les contaminants organiques mais aussi la teneur en métaux. De plus, avec le muscle on peut obtenir des résultats sur la contamination de l'environnement et pour la santé humaine.
- Dans une étude allemande sur des rivières localisés en Bavière, le foie de plusieurs espèces de poissons (barbeau, *Barbus barbus* ; brème, *Abramis brama* ; le gardon, *Rutilus rutilus* ; et anguille, *Anguilla anguilla*) a été analysé pour les contaminants organiques (Cf. liste en annexe 5), car cet organe est plus représentatif de la situation actuelle du milieu (Van de Graaff, Ifu, Bayern, communication personnelle). Les muscles sont analysés pour les contaminants organiques seulement dans les espèces très grasses telles que l'anguille européenne. Les muscles ainsi que la rate sont analysés pour les métaux.
- En ce qui concerne le milieu marin, les guides pour la surveillance chimique (OSPAR, 1999) recommandent d'utiliser les muscles pour les analyses de mercure et le foie pour les autres micropolluants métalliques et organiques (sauf pour le hareng, *Clupea harengus*, pour lequel le mercure et les composés organiques sont recherchés dans les muscles et seulement les métaux dans le foie). Dans un autre exemple de surveillance en milieu marin, le programme MED POL (UNEP/MAP, 1997), le foie et les reins des rougets (*Mullus barbatus* ou *M. surmuletus*) sont utilisés pour l'analyse des métaux et le muscle pour celle des hydrocarbures et des organochlorés. Cependant, à toutes fins utiles, les analyses des contaminants chimiques dans les muscles des rougets seraient suffisantes quand la quantité de tissus hépatique et rénal est faible.
- Le corps entier est analysé dans le cadre de certains programmes tels que NCBP<sup>9</sup>, un programme de surveillance américain où la protection des oiseaux est l'un des

<sup>9</sup> National Contaminant Biomonitoring Program

objectifs principaux. Dans le cadre de ce programme, les organochlorées et les métaux sont mesurés dans les poissons et les oiseaux. Le programme NAWQA pour sa part (Cf. la partie 4.6 pour plus d'informations) utilise le corps entier des poissons pour détecter la présence des principaux contaminants et étudier leur répartition spatiale, tout en minimisant une contamination de l'échantillon qui peut survenir lors de la dissection et l'isolation des organes (Crawford et Luoma, 1994).

### 3.3.2 Choix des espèces piscicoles pour la surveillance chimique

Le choix de l'espèce à prélever au sein d'un programme de suivi dépend finalement de l'abondance de l'espèce sur un site donné et des caractéristiques biométriques (p. ex., taille) et comportementales des organismes. Afin de minimiser les erreurs dans l'interprétation des données, il semble pertinent d'établir une liste d'espèces prioritaires à choisir quand l'espèce la plus favorable est absente ou pas assez abondante. Par exemple, dans le plan national sur la surveillance des PCB, le choix se porte sur l'anguille, ensuite la brème puis enfin la carpe (Cf. partie 4.2).

Parmi les différentes études examinées, il est difficile de conclure qu'une espèce est plus pertinente qu'une autre dans le choix d'un biomoniteur. Le choix dépendra essentiellement des objectifs du programme, des contaminants recherchés, de la stratégie d'échantillonnage et enfin des espèces présentes aux stations étudiées. Dans la partie qui suit, les espèces les plus souvent ciblées dans les études ou les programmes de surveillance européens sont brièvement décrites.

L'anguille (*Anguilla anguilla*), dans son stade jaune, est l'espèce la plus souvent étudiée car elle répond aux critères d'un « bon » biomoniteur (sédentaire, prédateur secondaire, répandue en Europe, résistante aux polluants, ne se reproduisant pas dans les eaux douces, voir Belpaire et Goemans, 2007a). Lors des prélèvements, les individus dont la longueur totale est comprise entre 40 et 70 cm sont le plus généralement ciblés. De plus dans le cadre de la DCE, cette espèce a été proposée pour la surveillance chimique des substances dangereuses par le groupe de travail européen sur l'anguille (WG-Eel, 2006). Ce groupe de travail a été formé au début des années 2000 pour la protection de l'anguille européenne. Ces données seront stockées dans une base de données qui permettra éventuellement de s'assurer que les NQE biote ne sont pas dépassés dans les masses d'eau surveillées. Par ailleurs, elle est ciblée par le plan National PCB en tant qu'espèce fortement bioaccumulatrice (Cf. partie 4.2).

Pour différentes raisons cependant, le choix de cette espèce semble problématique. Premièrement, depuis les années 80, les populations d'anguilles européennes déclinent du fait de la surpêche, de l'invasion des parasites allochtones (p. ex., *Anguillicola crassus*), et enfin des changements de leur environnement et de leur empoisonnement par les contaminants (Amilhat, 2007). Afin de restaurer les populations, leur commercialisation est réglementée au niveau international depuis cette année. De plus, les Etats membres ont dû mettre en place fin 2008 un plan de gestion pour chaque bassin versant. Toutefois, du fait de son utilité dans le secteur de la recherche, il n'existe pas à ce jour de réglementation pour les pêcher (P. Elie, Cemagref de Bordeaux, communication personnelle).

Les cyprinidés représentent la plus grande famille de poissons d'eau douce (Schofield *et al.*, 2005). Quelques exemples des espèces souvent pêchées en France et dans d'autres pays européens à des fins d'analyses chimiques sont mentionnés ci-dessous. Ces espèces sont en général benthopélagique (i.e., vivant à proximité du fond ou en pleine eau) et potamodrome (espèces effectuant la totalité de leur cycle de vie en rivière), sauf la brème bordelière (*Blicca bjoerkna*) qui est une espèce benthivore (vivant sur ou proche du fond et/ou se nourrissant sur les organismes benthiques). Ces poissons se nourrissent principalement de macroinvertébrés, parfois de plantes, et également de petits poissons<sup>10</sup>.

---

<sup>10</sup> cf. informations trouvées sur le site Internet Fishbase.org

- *Abramis brama* (brème commune) :
  - benthopélagique; potamodrome,
  - utilisé pour les études rétrospectives <sup>11</sup> en Allemagne depuis 1985,
  - pêchée en France pour le suivi des PCB dans la région Rhône Alpes,
  - tailles pêchées : entre 40 et 60 cm ou entre 25 et 60 cm,
  - âges à cibler : entre 8 et 12 ans,
  - actuellement prélevé dans le cadre du plan National PCB en tant qu'espèce fortement bioaccumulatrice (cf. partie 4.2).
- *Blicca bjoerkna* (brème bordelière) :
  - relativement similaire à l'œil nu à *A. brama*, sauf qu'elle est généralement plus petite,
  - taille ciblée lors des pêches : entre 25 et 40 cm,
  - période de reproduction: entre mai et juillet.
- *Barbus barbus* (barbeau fluviatile) :
  - période de reproduction : entre mai et juillet, après une migration en amont des cours d'eau,
  - se nourrit d'invertébrés benthiques (larves d'insectes, crustacés, mollusques),
  - tailles ciblées lors des pêches : entre 40 et 60 cm.
- *Leuciscus cephalus* (chevaine) :
  - omnivore (vers, insectes, mollusques...), effectue peu de migrations,
  - période de reproduction : mars et avril,
  - ciblé, comme l'anguille européenne, pour le suivi des concentrations de PCB et des dioxines dans le bassin Meuse-Rhin et de l'Escaut (Thomé et Leroy, 2007).
- *Rutilus rutilus* (gardon) :
  - benthopélagique, potamodrome,
  - omnivore, se nourrit d'invertébrées et de plantes aquatiques, particulièrement quand il atteint le stade adulte,
  - principalement pêché dans la région Artois-Picardie (à la place de l'anguille qui est limité par les barrages) et utilisé dans les années 90 en tant que support analytique dans un réseau expérimental de surveillance de la contamination métallique et microorganique des chairs et des foies des espèces piscicoles différentes dont le gardon<sup>12</sup>. Par contre il a été noté comme peu abondant ou absent dans l'embouchure des petits cours d'eau (Noppé, 1996 ; Vithaya, 1998),
  - ciblé aujourd'hui par le plan National PCB en tant qu'espèce faiblement bioaccumulatrice (Cf. partie 4.2).

<sup>11</sup> Études qui s'intéressent à l'historique d'une contamination. Dans l'exemple cité, des échantillons de poissons ou d'autres organismes bancarisés depuis 10 ans sont utilisés afin d'examiner les effets toxiques ou les concentrations des contaminants divers pour les comparer à ceux du présent

<sup>12</sup> Réseau mis en place en 1994 (pour une durée de 3 ans) dans le cadre d'une convention avec le Conseil Supérieur de la Pêche.

Les autres espèces piscicoles qui sont souvent prélevées en France pour les analyses chimiques sont :

- *Perca fluviatilis* (perche) :
  - se reproduit dans les eaux douces,
  - se nourrit d'invertébrés benthiques, perches juvéniles et autres petits poissons,
  - reproduction au printemps,
  - ciblé par le plan National des PCB en tant qu'alternative au gardon et donc faible bioaccumulateur (Cf. partie 4.2).
- *Cottus gobio* (chabot) :
  - non consommé par l'homme,
  - benthique et potamodrome,
  - mange les invertébrés benthiques.

### 3.3.3 Avantages et inconvénients

1) L'utilisation des poissons en tant qu'espèces monitrices des tendances temporelles des contaminants pourrait s'avérer pertinente. Le choix des espèces dépend principalement des objectifs de la surveillance chimique et des paramètres d'échantillonnage prédéfinis (p. ex., taille homogène ou âge similaire), mais dépend également de leur abondance, de leur représentativité écologique au niveau des sites d'étude et enfin des contaminants recherchés.

2) La disponibilité d'une seule espèce sur chaque site et lors de chaque échantillonnage est très variable et il est probable qu'une espèce recherchée fasse défaut sur certains sites. Il est donc important de prévoir une sélection de différentes espèces similaires (p. ex., en termes de mode d'exposition aux contaminants, de teneur en matière grasse et de mode de vie, ...), au sein d'un même bassin ou alors entre différentes zones géographiques, en cas d'absence de l'espèce recherchée en premier lieu. Lors de l'échantillonnage, il faut faire attention aux espèces (p. ex. l'anguille européenne) qui font l'objet d'un ré-empeuplement régulier. En effet, dans ce cas ces poissons issus de la pisciculture ne seront pas représentatifs des milieux où ils sont pêchés.

L'utilisation des poissons pour l'application des NQE semble être délicate mais pas forcément exclue.

3) Le choix des tissus à analyser n'est pas évident, et varie entre les études et les différents programmes de surveillance. Malgré cela, on peut constater qu'en règle générale les tissus les plus fréquemment ciblés sont le muscle pour les composés organiques hydrophobes et le foie pour les métaux.

4) Autres inconvénients :

- Une confusion permanente entre les aspects environnementaux et sanitaires. Cela génère énormément de difficultés lors de l'interprétation des résultats,
- une très forte variabilité : quelle espèce, quel organe, quel sexe, quelle période... sélectionner pour une étude ?,
- l'interprétation des résultats : il n'existe pas de règle, les résultats peuvent être exprimés soit en poids frais, poids sec, par gramme de lipides...



## 4 Programmes de surveillance pour le milieu continental

Cette section résume les différents programmes de surveillance des eaux douces en France ainsi que dans d'autres pays ayant recours aux espèces biomonitrices. Un historique et un rappel de la situation actuelle « post-DCE » sont brièvement présentés. Les différentes méthodes d'échantillonnage employées pour le biote sont présentées dans l'annexe 5.

### 4.1 Les Agences de l'eau (France)

Depuis les années 1980 les Agences de l'eau (AE) sont en charge du suivi des micropolluants dans les masses d'eau.

Les analyses chimiques se font dans plusieurs matrices : eau brute (ou fraction dissoute pour les métaux), MES, sédiments et bryophytes. Cette dernière matrice est un support analytique bien établi pour la surveillance de la contamination métallique en milieu aquatique, mais qui est peu (voire pas du tout) privilégiée dans les circulaires de la DCE, qui semblent davantage privilégier le suivi dans les matrices eau et sédiment. De plus, les bryophytes sont absentes ou peu abondantes sur certains bassins (Artois-Picardie, Seine-Normandie...) (Cf. partie 3.1).

Sachant l'importance de la surveillance chimique dans les matrices biologiques, certaines agences de l'eau, en collaboration avec différents instituts de recherche, ont étudié (et continuent de le faire) d'autres organismes représentatifs des bassins. Pourtant, en raison des coûts et des difficultés relatives à l'échantillonnage, aux analyses chimiques, et à l'exploitation des données qui peuvent se présenter, leur mise en œuvre généralisée dans des réseaux de surveillance ne semble pas envisagée actuellement. De plus les méthodes d'analyse normalisées n'existent généralement pas, ce qui pose un problème important au niveau de la qualité des données (Schiavone et Coquery, 2009).

Pour le bassin Artois-Picardie par exemple, un programme de surveillance biologique a été mis en œuvre dans les années 1990 afin de comparer les niveaux de contamination des différentes espèces piscicoles qui peuplent ce bassin, et entre différents supports (muscle, foie, sédiment). Plus récemment, en 2008, un projet basé sur l'étude de Belpaire *et al.* (2008) a été mené par l'Agence de l'eau Artois-Picardie en partenariat avec l'INERIS et l'ONEMA, sur le gardon et le chabot afin d'analyser dans ces espèces, les trois molécules dont la directive fille a fixé les NQE biote. Selon les informations obtenues, par exemple sur la présence des molécules hydrophobes dans le réseau soumis à la surveillance, l'Agence de l'eau Artois-Picardie élargira leur choix des contaminants à analyser dans ces poissons. Les résultats de cette opération devraient être disponibles fin 2009.

Pour le bassin Seine-Normandie un outil d'aide à la décision a été mis en place et appliqué (Cosson, 2008) afin de faciliter le paramétrage de suivi du réseau. La décision du choix des espèces se base sur trois axes (i.e., la station, les espèces piscicoles et les micropolluants recherchés) à partir desquels on définit les paramètres d'échantillonnage à prendre en compte lors de la surveillance.

### 4.2 Le Plan national PCB (France)

Le plan national d'action sur les PCB, présenté au début 2008, est un plan interministériel construit autour de six axes (CNP, 2008). Dans le cadre du troisième axe, qui a pour but de renforcer la surveillance des milieux aquatiques et des produits de la pêche mis sur le marché et d'adopter les mesures de gestion des risques appropriées, un plan national d'échantillonnage et un réseau de suivi de la contamination des poissons proposé par l'AFSSA ont été mis en œuvre par l'ONEMA (AFSSA, 2008). Les recommandations d'échantillonnage spécifient les sites visés pour les analyses, l'organisation du prélèvement des sédiments et des poissons, et les modes de préparation et d'analyse des échantillons de

poisson ainsi que de gestion des données. Au total, environ 300 sites, où les concentrations de PCB dans les sédiments sont supérieures à 10 ng/g PS et où la pêche professionnelle est concentrée, sont visés. En ce qui concerne le protocole d'échantillonnage des poissons, 5 lots mono-spécifiques d'une espèce fortement bioaccumulatrice (en priorité l'anguille jaune, puis le brème, la carpe et le barbeau) et 5 lots d'une espèce faiblement bioaccumulatrice (en priorité le gardon, puis la perche, la vandoise ou le sandre) sont prélevés au niveau de chaque site sélectionné. Chaque lot ainsi constitué doit contenir un ou plusieurs individus dont les tailles sont représentatives de celles communément consommées en France (i.e., les plus gros et les plus petits individus sont exclus des lots). A ce jour, 892 lots de poissons ont été échantillonnés sur 107 des sites les plus contaminés parmi les 300 sites faisant partie du réseau de suivi. Les dosages des PCB (et aussi de mercure) sont en cours. Les échantillons prélevés en 2008 ont tous été analysés par le LABERCA. Ces actions figurent dans un plan pluriannuel qui se poursuit en 2009 et 2010. Pour en savoir plus sur les données concernant les PCBs dans les poissons et sur les autres actions menées dans le cadre des cinq autres axes du plan national, toutes les informations sont disponibles sur le site Internet Eaufrance (<http://www.ecologie.gouv.fr/PCB.html>).

#### **4.3 Flemish Eel Pollutant Monitoring Network (Belgique)**

Le réseau de surveillance flamand des micropolluants dans l'anguille européenne est un des nombreux programmes menés par l'institut de recherche national pour la nature et les forêts (INBO) de Belgique. Ce réseau a été constitué en 1994. Depuis, environ 2600 anguilles ont été échantillonnées sur 357 stations différentes (ruisseaux, rivières, canaux, étangs et lacs) répartie sur l'ensemble de la Belgique. Au niveau de chaque station, 5 à 10 anguilles sont prélevées pour être analysées individuellement pour 10 congénères de PCB, 9 pesticides organochlorés et 9 métaux lourds. De plus, sur certaines stations, d'autres micropolluants (p. ex., les polybromodiphényles, certains perturbateurs endocriniens, et les composés perfluorés) ont été recherchés dans les tissus des anguilles. Les données sont présentées dans Belpaire et Geomans (2007a et 2007b). Ces études ont mis en évidence l'importance de cet organisme en tant qu'outil analytique pour évaluer l'état chimique du milieu continental et pour la protection de la santé humaine. Grâce aux résultats obtenus sur les PCB dans le cadre de ce réseau, la Belgique a mis en application en 2002 une nouvelle norme sanitaire pour 7 PCB (75 ng/g poids frais). Plus d'information sur ce réseau et sur l'INBO sont disponibles sur le site Internet suivant : <http://www.inbo.be>.

#### **4.4 Programme national de surveillance en Finlande**

Le programme national pour la surveillance environnementale en Finlande date des années 1980, et est conduit par l'institut national pour l'environnement (SYKE). L'objectif principal du programme est de déterminer et de mesurer les concentrations des micropolluants dans différents organismes (aquatiques et terrestres) de la chaîne alimentaire. Certains organismes et tissus biologiques sont conservés dans une banque d'échantillons pour la surveillance rétrospective des micropolluants émergents. Les micropolluants ciblés pour la surveillance correspondent à des exigences réglementaires nationales, européennes (DCE) et s'inscrivent dans des conventions Internationales (p.ex., HELCOM<sup>13</sup> et AMAP<sup>14</sup>). En ce qui concerne la surveillance du milieu continental, le programme a été révisé en 2008 et son action sera effective sur une période de quatre ans (2009-2012). Les détails des méthodes d'échantillonnage du biote se trouvent dans l'annexe 6.

<sup>13</sup> Helsinki Commission, la convention internationale pour la protection de la mer Baltique : <http://www.helcom.fi>

<sup>14</sup> Arctic Monitoring and Assessment Programme, l'organisation international pour la protection de l'environnement arctique : <http://www.amap.no/>

#### 4.5 CIPEL (Franco-Suisse)

La Commission internationale pour la protection des eaux du Léman (CIPEL), créée en 1962, assure le suivi des micropolluants dans le biote depuis 30 ans. En 2004, la commission franco-suisse a formé le groupe de travail « micropolluants » afin de surveiller les micropolluants organiques et les métaux présents dans les écosystèmes aquatiques du bassin lémanique. Ces micropolluants sont suivis dans la colonne d'eau et dans les organismes vivants du lac (poissons et moules zébrées). Les prélèvements dans la colonne d'eau se font 2 fois par an à 9 mètres de profondeur et les analyses sont effectuées par le service genevois de protection de la consommation. Les poissons sont prélevés par l'INRA de Thonon-les-Bains et sont analysés pour les PCB et le mercure par le service cantonal genevois de protection de la consommation. Les poissons visés sont les ombles chevaliers, les lottes, les perches et les féras (corégones). En ce qui concerne les moules zébrées, les prélèvements et les analyses sont réalisés par le service cantonal genevois de protection de la consommation pour la surveillance des organoétains (tributylétain, dibutylétain, triphénylétain) et des métaux lourds. Pour plus d'informations sur la Commission et les résultats obtenus lors des différentes campagnes de prélèvement, consulter le site Internet (<http://www.cipel.org>). Les rapports scientifiques sur le suivi des micropolluants se trouvent sur le lien suivant : <http://www.cipel.org/sp/rubrique49.html> (Cf. annexe 6).

#### 4.6 Programme NAWQA (USA)

Suite à la promulgation de la loi sur le contrôle de la pollution des eaux<sup>15</sup> et celle sur les substances toxiques<sup>16</sup>, la qualité des masses d'eau de 60 régions des Etats-Unis est surveillée. Différentes agences fédérales ont mis en place des programmes de surveillance des micropolluants dans les matrices biologiques.

Pour la surveillance du milieu continental, l'USGS<sup>17</sup> a mis en œuvre depuis 1993 le programme national pour l'évaluation de la qualité des eaux (NAWQA<sup>18</sup>). Il est structuré autour de trois objectifs :

- 1) évaluer l'état du milieu continental (les cours d'eau, plans d'eau et eaux souterraines),
- 2) évaluer la distribution spatiale et les tendances temporelles de certains micropolluants,
- 3) déterminer comment les phénomènes naturels et les activités humaines peuvent avoir un effet sur la qualité du milieu continental.

Les actions mises en œuvre pour réalisation de ces objectifs sont réparties dans trois cycles, chacun durant 10 ans. L'analyse des matrices biologiques (insectes, mollusques bivalves, poissons et plantes vasculaires) faisait partie du 1<sup>er</sup> cycle (de 1993 à 2001) et répondait au second objectif.

A cet effet, un guide sur les stratégies d'échantillonnage et le choix des organismes a été réalisé afin de proposer des stratégies d'échantillonnage adaptées aux différents objectifs du programme.

Les actions en cours durant deuxième cycle (de 2001 à 2012) ont pour objectifs de préciser les résultats ou les tendances observés lors du premier cycle de surveillance, en mettant en place un dispositif de surveillance plus intensif au niveau d'un sous-ensemble de ces stations. En raison des coûts afférents importants, et de la difficulté d'interprétation des données de contaminants bioaccumulés (notamment en raison d'une grande hétérogénéité

<sup>15</sup> Federal Water Pollution Act of 1972

<sup>16</sup> Toxic Substance Act of 1976

<sup>17</sup> United States Geological Survey

<sup>18</sup> National Water-Quality Assessment

des espèces prélevées sur l'ensemble du territoire), les analyses dans le biote n'ont pas été reconduites au cours de la deuxième phase du programme. Des méthodes alternatives (p. ex., les échantillonneurs passifs tels que POCIS et SPMD) ont ainsi été privilégiées dans cette deuxième phase notamment pour évaluer la présence des micropolluants organiques. La planification du 3<sup>ème</sup> cycle est actuellement en cours. Tous les résultats et les données obtenus jusqu'à présent sont accessibles sur le lien suivant : <http://water.usgs.gov/nawqa/> .

## 5 Conclusion et recommandations

Une évaluation et une surveillance efficace de la qualité des milieux aquatiques nécessite plusieurs types d'analyses : biologique (évaluation des effets toxiques sur la faune et la flore) et chimique (évaluation de la contamination dans l'eau -en phase dissoute et matières en suspension-, les sédiments et enfin les organismes sentinelles ou biomoniteurs). L'utilisation des biomoniteurs donne une information supplémentaire et essentielle (p. ex. l'accumulation du contaminant le long de la chaîne trophique) afin de connaître et de suivre les contaminants sur une échelle temporelle et spatiale.

Les stratégies d'échantillonnage et la méthodologie pour choisir des organismes sentinelles en tant qu'outils analytiques n'ont pas à ce jour fait l'objet d'une standardisation pour la surveillance des contaminants dans le milieu continental. Ceci risque de compromettre l'acquisition de données comparables entre les différents sites et les bassins tant au niveau national qu'au niveau européen.

Afin d'établir les stratégies d'échantillonnage et le choix des biomoniteurs, il est impératif de bien définir les objectifs du programme de surveillance que l'on souhaite mettre en oeuvre. Dans le cadre de la DCE, deux objectifs principaux sont visés : d'une part, le suivi des tendances (temporelles et spatiales) des concentrations des contaminants et d'autre part, la comparaison des concentrations dans les organismes à des normes de qualité environnementales établies pour le biote dans le cadre de la directive fille (EC, 2008).

Dans cette optique, le présent document a mis en avant plusieurs exemples de stratégies d'échantillonnage existantes, ainsi que les avantages et les inconvénients relatifs à l'utilisation comme biomoniteurs de divers organismes, dans le cadre d'études ou de programmes de surveillance réalisés en France et dans d'autres pays.

### • **Choix des biomoniteurs selon les objectifs de la surveillance**

Le Tableau 8 récapitule les différents types d'organismes étudiés dans ce document et propose un classement en fonction des objectifs de surveillance poursuivis, ainsi que des critères principaux pour le choix d'un biomoniteur.

Il existe différentes façons d'organiser ou de définir les stratégies d'échantillonnage. Le plus important est que la stratégie d'échantillonnage et le choix de l'organisme ou des organismes ciblés correspondent aux objectifs recherchés par le programme de surveillance qui sera mis en oeuvre.

Ne retenir qu'une seule espèce (p. ex., le programme de surveillance belge qui cible l'anguille européenne) semble peu réaliste malgré les nombreux avantages que cela représente. En revanche, choisir plusieurs espèces et groupes d'organismes (p. ex., le programme de surveillance en Bavière, Allemagne) ciblant plusieurs espèces piscicoles et le mollusque bivalve *Dreissena polymorpha*) peut rapidement devenir économiquement trop coûteux.

### • **Choix des méthodologies et des stratégies d'échantillonnage**

Pour chaque région ou bassin, il conviendra de trouver un consensus en vue d'homogénéiser les stratégies d'échantillonnage des biomoniteurs afin d'obtenir des données comparables. Pour ce faire, il apparaît important de mettre à la disposition des Agences de l'eau et des DIREN en France, un guide technique tel que ceux réalisés dans le cadre de la convention OSPAR pour l'échantillonnage des organismes du milieu marin (Cf. annexe 6), ou au niveau européen par le CMA (en cours de rédaction), mais appliqués au contexte des bassins français. Les propositions de base pour un tel guide sont présentées

dans le Tableau 9. Les informations proviennent des données présentées dans ce document et du guide technique européen sur les stratégies de surveillance chimique dans le biote (CMA, 2009<sup>19</sup>).

Il sera nécessaire de compléter les informations manquantes dans ce tableau avec les informations établies par les agences d'eau, ainsi qu'avec les résultats des études en cours sur la validation des bioindicateurs. Il conviendra également de tenir compte des propositions finales du guide européen CMA.

#### • **Discussion sur les choix possibles**

Pour chaque objectif prédéfini, (p. ex. le suivi des tendances temporelles ou de la distribution spatiale des concentrations des contaminants, Cf. Tableau 8), il s'agira d'établir une liste de plusieurs espèces qui peuvent appartenir aux 3 types d'organismes différents (mousses aquatiques, mollusques bivalves, poissons), ainsi que de préciser une série de paramètres physiologiques et biologiques (p. ex., nombre d'individus à prélever, taille, âge, sexe et tissus biologiques à cibler) dont il faudra tenir compte lors de l'échantillonnage et de l'analyse chimique en laboratoire. En complément de ces généralités, la stratégie d'échantillonnage devra être affinée et plus détaillée en fonction du choix des espèces, de la fréquence et de la période des prélèvements, du traitement et de la préparation des organismes pour les analyses et contaminants recherchés.

En ce qui concerne le choix des espèces sentinelles dans un contexte purement français, on peut constater, d'après les informations présentées dans ce document et le guide européen CMA, qu'en général, les mousses aquatiques et certains macroinvertébrés, dont par ex. les mollusques bivalves, les chironomes (insecte) ou les gammares (crustacé), pourraient être retenus pour la surveillance des tendances temporelles et spatiales des contaminants en général, et plus spécifiquement pour les métaux traces. L'accumulation des micropolluants organiques semble moins effective chez les mousses aquatiques, et elle est encore relativement peu documentée chez les mollusques (à l'exception notable de deux familles de substances, les HAP et les PCB) et chez les autres invertébrés.

Les espèces piscicoles (telles que la brème et l'anguille européenne) pourraient également être utilisées dans le cadre d'une surveillance chimique des masses d'eau, mais probablement seulement au niveau régional. Choisir une seule espèce de poisson au niveau national n'apparaît en effet pas possible du fait de la répartition hétérogène des espèces selon les masses d'eau. C'est pourquoi, il sera nécessaire de préparer au niveau national une sous-liste des espèces piscicoles à cibler en cas d'absence d'une espèce ciblée en priorité. On pourrait se baser par exemple sur la liste recommandée pour le plan national des PCB (l'anguille, la brème, le barbeau ou la carpe pour les poissons fortement bioaccumulateurs ; le gardon, la perche, la vandoise et le sandre pour les poissons faiblement bioaccumulateurs). Le choix des espèces est complexe et doit être fait avec beaucoup de précaution. Leur utilisation nécessite la prise en compte de nombreux paramètres de manière à ne pas conduire à une mauvaise interprétation des résultats. Avant de se lancer dans le choix des espèces piscicoles, il faut bien déterminer les paramètres spécifiques de choix (taille, sexe, organe(s) à cibler) qui devraient être considérés tout au long de la surveillance. Par ailleurs, il est important de mentionner et de considérer lors du choix des espèces piscicoles que l'anguille européenne, fortement sollicitée par la communauté européenne et certains pays (p. ex., la Belgique) en tant que biomoniteur « idéal » dans le cadre de la DCE, est une espèce protégée, et dans certaines régions, une espèce introduite dans les cours d'eau. Il serait donc peut être préférable de considérer l'anguille européenne uniquement en tant qu'espèce alternative dans la liste des espèces

---

<sup>19</sup> Le guide technique en cours de préparation par le groupe de travail européen « Chemical Monitoring Activity » sur les stratégies de surveillance chimique dans les sédiments et dans le biote pour les milieux aquatiques

piscicoles ciblées.

- ***Les biomoniteurs et l'application des NQE***

En ce qui concerne le choix des espèces pour l'application des NQE biote, le sujet demande plus de réflexion et de clarification à partir notamment des textes réglementaires et des guides techniques en cours de rédaction au niveau européen. De plus le choix de l'organisme, des stratégies d'échantillonnages et des méthodes analytiques nécessitent une harmonisation et une normalisation au niveau national et européen, avant toute application.

Le suivi des concentrations de contaminants dans les organismes fournira des données et des informations complémentaires sur la qualité des eaux, telle que la biodisponibilité des contaminants, qui ne peuvent pas être observées au travers de la surveillance des autres compartiments aquatiques (colonne d'eau et sédiment). Son utilité sur le moyen et le long terme dépendra essentiellement d'une part de la capacité à établir des choix judicieux de stratégies et d'organismes à suivre à un niveau national, et d'autre part, d'établir des cahiers des charges strictes afin d'assurer l'inter-comparabilité des données dans le temps et l'espace.

**Tableau 8 : Valeur des principales espèces biomonitrices selon les objectifs de surveillance et les différents critères de sélection identifiés dans ce rapport**

Objectifs pour la surveillance des contaminants et critères de sélection d'un biomoniteur		Mousses aquatiques	Macroinvertébrés			Espèces piscicoles
			Chironome	Gammare	Bivalve	
<b>Objectifs de la DCE</b>	Suivre des tendances des contaminants	+	+ / -	+ / -	+	+
	Comparaison aux NQE biote	?	?	?	?	?
	Contaminants recherchés	Métaux	Métaux	Métaux	Métaux et composés organiques (corps entiers, sans les coquilles)	Composés organiques (muscle, foie ou corps entier) Métaux (foie, reins ou muscle)
<b>Critères de sélection</b>	Mode d'exposition	colonne d'eau adsorption ou absorption des particules	interface sédimentaire	colonne d'eau nourriture et ingestion des particules en suspension	colonne d'eau (MZ) interface sédimentaire (CF) filtration de la nourriture et particules en suspension	colonne d'eau interface sédimentaire nourriture et particules en suspension
	Sans intérêt/impact écologique	++	++	++	- Invasive	+ / ? Certaines espèces sont protégées et subtile au parasitisme (p.ex., anguille)
	Sédentarité	+ sessile	+ sessile (stade larvaire)	+ / -	+ sessile (stade adulte)	+ / -
	Représentativité	Ce critère dépend des régions ou des bassins				
	Abondance sur site	Ce critère dépend des régions ou des bassins				
	Faciles à identifier et à prélever	+	+ / -	+ / -	+	+
	Facilité de transplantation en cage	++	-	+	++	-
	Taille suffisante pour obtenir la quantité de tissu biologique nécessaire pour les analyses chimiques	+	-	-	+	+ / ++ Dépend des espèces / organes ciblés
	Résistants à la contamination	+	+ / -	+ / -	+	+
	Capacité de bioaccumulation	+/- métaux - organiques	+ / - métaux ? organiques	+ / - métaux ? organiques	+	++ Dépend des espèces / organes ciblés
Peu coûteux (prélèvement et autres manipulations expérimentales)	+/-	+/-	+/-	+	-	

CemOA : archive ouverte d'Irstea / Cemagref

CR : Chironome (*Chironomus riparius*), GF Gammare (*Gammarus pulex*), MB : mollusques bivalves, MZ : moule zébrée (dreissène), CF : palourde asiatique (*Corbicula fluminea*)

Sessile = stationnaire, ne bouge pas ; ++ : Très favorable ; + : Avantageux (en général) ; - : Inconvénient (en général) ; ? Incertain et non déterminé, ou difficile à constater



**Tableau 9 : Sélection des biomoniteurs et différents paramètres d'échantillonnage proposés par le CMA pour la surveillance chimique des cours d'eau**

<b>Biomoniteurs potentiels</b>	<b>Mousses aquatiques</b> (p.ex. <i>Fontinalis</i> sp.)	<b>Dreissène</b> ( <i>Dreissena polymorpha</i> )	<b>Brème<sup>a</sup></b> ( <i>Abramis brama</i> )	<b>Anguille européenne</b> ( <i>Anguilla anguilla</i> )
<b>Objectifs quantitatifs</b>	A définir			
<b>Représentativité du biote</b> - par rapport au niveau de contamination dans le milieu - par rapport à la variabilité spatiale du site en question	A définir			
<b>Stratégie de surveillance</b>	Passive et active	Plutôt active	passive	
<b>Contaminants recherchés (tissus à prélever)</b>	métaux	Métaux et éventuellement des contaminants organiques	Contaminants organiques (muscle) Métaux (foie)	
<b>Taille de l'échantillon</b>	20 à 30 g de brins poids frais essoré	1 composite de 50 individus minimum 3 composites de 10 à 25 individus	Incertain	Incertain
<b>Période du prélèvement</b>	Automne et printemps	Début automne Printemps/début été	Entre juillet et octobre	Mars à octobre (ou entre avril et juin)
<b>Taille des individus</b>	2 à 3 cm de l'apex	15 – 20 mm	40 à 60 cm (8 à 12 ans)	40 à 70 cm (stade jaune)
<b>Fréquence de prélèvement</b>	Selon la Directive fille (EC, 2008) au moins une fois par an			

a = le chevaine *Leuciscus cephalus* pourrait être utilisé également.

## 6 Références

- AE (1997a). Système d'évaluation de la qualité de l'eau: Seuils de qualité pour les micropolluants organiques et minéraux dans les eaux superficielles. Synthèse. Cahier technique n°53. 21p.
- AE (1997b). La mesure des micropolluants dans le cadre du réseau national de bassin. Méthodologie et recommandations. Étude Inter-agences n°54. 46p.
- AE (1998). Les bryophytes aquatiques comme outil de surveillance de la contamination des eaux courantes par les micropolluants métalliques. Concept, méthodologie et interprétation des données. Étude inter-agences n°5. 145p.
- AE (2003). Système d'évaluation de la qualité de l'eau des cours d'eau (SEQ-Eau version 2). 106p.
- AE (2005). Cahier des clauses techniques particulières. Lot n°2: Réalisation de prélèvements de sédiments et de bryophytes. Axe Rhône, Saône.
- AE (2006). Le prélèvement d'échantillons en rivière: techniques d'échantillonnage en vue d'analyses physico-chimiques. Guide technique.
- AFNOR (2004). Qualité de l'eau. Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce vis-à-vis de *Chironomus riparius*. Partie 1: Sédiments naturels. XP T 90-339-1: 23p.
- AFSSA (2008). Plan national d'actions sur les polychlorobiphényles (PCB). Axe 3.2 : Plan national d'échantillonnage des poissons en milieux aquatiques. Réseau de suivi de la contamination des poissons. 9p.
- Ah-Peng, C. (2003). Mise au point d'un outil diagnostique basé sur l'utilisation de la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* Hedw. en culture pour l'estimation de la qualité des cours d'eau. Mémoire de doctorant. Diplôme de recherches technologiques. Université de Lille II. 187p.
- Ah-Peng, C., Rausch de Traubenberg, C. (2004). Bryophytes aquatiques bioaccumulateurs de polluants et indicateurs écophysologiques de stress: synthèse bibliographique. *Cryptogamie, Bryologie* 25(3): 205-248.
- Amilhat, E. (2007). Etat sanitaire de l'anguille européenne *Anguilla anguilla* dans le bassin Rhône Méditerranée et Corse : synthèse bibliographique. Rapport Pôle lagunes et Cépralmar. 88p.
- André, B., Lascombe, C. (1987). Comparaison de deux traceurs de la pollution métallique des cours d'eau : les sédiments et les bryophytes. *Sciences de l'eau* 6: 225-247.
- Andrés, S., Baudrimont, M., Lapaquellerie, Y., Ribeyre, F., Maillet, N., Latouche, C., Boudou, A. (1999). Field transportation of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* along a polymetallic contamination gradient (River Lot, France): I. Geochemical characteristics of the sampling sites and cadmium and zinc bioaccumulation kinetics. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18(11): 2462-2471.
- Beeby, A. (2001). What do sentinels stand for? *Environmental Pollution* 112: 285-298.
- Belpaire, C. and Goemans, G. (2007a). The European eel *Anguilla anguilla*, a rapporteur of the chemical status for the water framework directive. *Vie et Milieu-Life and Environment* 57 (4): 235-252.
- Belpaire, C., Goemans, G. (2007b). Eels: contaminant cocktails pinpointing environmental contamination. *ICES Journal of Marine Sciences* 64: 1423-1436.
- Belpaire, C., Goemans, G., Geeraerts, C., Quataert, P., Parmentier, K. (2008). Pollution fingerprints in eels as models for the chemical status of rivers. *ICES Journal of*

- Berny, P., Lachaux, O., Buronfosse, T., Mazallon, M., Gillet, C. (2002). Zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as indicators of freshwater contamination with Lindane. *Environmental Research* 90(Section A): 142-151.
- Bervoets, L., Meregalli, G., De Cooman, W., Goddeeris, B., Blust, R. (2004a). Caged midge larvae (*Chironomus riparius*) for the assessment of metal bioaccumulation from sediments *in situ*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(2): 443-454.
- Bigot, A., Doyen, P., Vasseur, P., Rodius, F. (2009). Metallothionein coding sequence identification and seasonal mRNA expression of detoxification genes in the bivalve *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72: 382-387.
- Bloom, N.S. (1992): On the Chemical Form of Mercury in Edible Fish and Marine invertebrate Tissue. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49(5): 1010–1017 (1992)
- Bleuel, C., Wesenberg, D., Sutter, K., Miersch, J., Braha, B., Bärlocher, F., Krauss, G.-J. (2005). The use of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a biomonitor for heavy metals. 3. Cd<sup>2+</sup> accumulation capacities and biochemical stress response of two *Fontinalis* species. *Science of the Total Environment* 345: 13-21.
- Bonnet, C. (2000). Développement de bioessais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés. Thèse de Docteur, Université de Metz. 250p.
- Bruns, I., Friese, K., Markert, B., Krauss, G.-J. (1997). The use of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a bioindicator for heavy metals. 2. Heavy metal accumulation and physiological reaction of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. in active biomonitoring in the River Elbe. *The Science of the Total Environment* 204: 161-176.
- Buet, A., Banas, D., Vollaire, Y., Coulet, E., Roche, H. (2006). Biomarker responses in European eel (*Anguilla anguilla*) exposed to persistent organic pollutants. A field study in the Vaccarès lagoon (Camargue, France). *Chemosphere* 65(10): 1846-1858.
- Cenci, R. M. (2000). The use of aquatic moss (*Fontinalis antipyretica*) as monitor of contamination in standing and running waters: limits and advantages. *Journal of Limnology* 60(suppl.1): 53-61.
- Cesa, M., Bizzotto, A., Ferraro, C., Fumagalli, F., Nimis, P. L. (2006). Assessment of intermittent trace element pollution by moss bags. *Environmental Pollution* 144: 886-892.
- Chevreuil, M., Blanchard, M., Teil, M. J., Carru, A. M., Testard, P., Chesterikoff, A. (1996). Evaluation of the pollution by organochlorinated compounds (Polychlorobiphenyls and pesticides) and metals (Cd, Cr, Cu, and Pb) in the water and in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) of the river Seine. *Water, Air and Soil Pollution* 88: 371-381.
- Chevreuil, M., Granier, L., Carru, A. M. (1995a). Relationship between biological parameters and bioaccumulation of some organochlorines (pesticides, PCB) by fishes in the river Seine (France). *Water, Air and Soil Pollution* 81: 107-120.
- Claveri, B., Guéroid, F., Pihan, J. C. (1995). Use of transplanted mosses and autochthonous liverworts to monitor trace metals in acidic and non-acidic headwater streams (Vosages mountains, France). *The Science of the Total Environment* 175: 235-244.
- Claveri, B., Morhain, E., Mouvet, C. (1994). A methodology for the assessment of accidental copper pollution using the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Chemosphere* 28(11): 2001-2010.
- CNP (2008). Plan national d'actions sur les polychlorobiphenyles (PCB). Comité National de

Pilotage et de suivi du mercredi 6 février 2008. 11.

- Corvi, C., Khim-Heang, S., Becker van Slooten, K., Stegmüller, A. M., Tarradellas, J. (1996). Métaux et micropolluants organiques dans les dreissènes. Rapp. Comm. int. prot. eaux Léman contre pollut., Campagne 1995. 187-197.
- Corvi, C., Khim-Heang, S., Zimmerli, P. (2001). Métaux et micropolluants organiques dans les poissons et les moules du Léman. Rapp. Comm. int. prot. eaux Léman contre pollut., CIPEL, Campagne 2000. 145-159.
- Corvi, C., Zimmerli, P., Orтели, D., Khim-Heang, S., Becker van Slooten, K. (2005). Métaux et micropolluants organiques dans les eaux, les moules et les poissons du Léman. Rapp. Comm. int. prot. eaux Léman contre pollut., CIPEL, Campagne 2004. 55-78.
- Crawford, J. K., Luoma, S. N. (1994). Guidelines for studies of contaminants in biological tissues for the National Water-Quality Assessment Program: U.S. Geological Survey Open-File Report 92-494. 69.
- Croisetière, L., Hare, L., Tessier, A., Duchesne, S. (2005). Modeling cadmium exchange by an aquatic moss (*Fontinalis dalecerlica*). Environmental Science and Technology 39(9): 3056-3060.
- Croteau, M. N., Luoma, S. N., Topping, B. R., Lopez, C. B. (2004). Stable metal isotopes reveal copper accumulation and loss dynamics in the freshwater bivalve *Corbicula*. Environmental Science and Technology 38(19): 5002-5009.
- Cucherat, X. (2003). Étude préliminaire à la mise au point d'une méthodologie de suivi des plans d'eau du bassin Artois-Picardie à l'aide des peuplements de mollusques aquatiques. Rapport de DESS - Agence de l'eau Artois-Picardie, Douai. 56p + annexes.
- Durrieu, G., Maury-Brachet, R., Girardin, M., Rochard, E., Boudou, A. (2005). Contamination by heavy metals (Cd, Zn, Cu, and Hg) of eight fish species in the Gironde estuary (France). Estuaries 28(4): 581-591.
- EC (2000). Directive 2000/60/CE du parlement européen et du conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau, Journal Officiel des Communautés Européennes. L 327/1.
- EC (2001). Commission regulation No. 466/2001 of March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Official Journal of the European Communities. L 77/1: 13.
- EC (2005). Mercury and its compounds. Environmental quality standards (EQS) substance data sheet. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive. 21p.
- EC (2008). Directive 2008/105/CE du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau. Journal officiel de l'Union européenne. L 348/85.
- Environment-Canada (1997). Biological test method. Test for growth and survival in sediment using larvae of freshwater midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32. Environment Canada, Ottawa, CAN.: 133p.
- Faria, M. S., Lopes, R. J., Nogueira, A. J. A., Soares, A. (2007). In situ and laboratory bioassays with *Chironomus riparius* larvae to assess toxicity of metal contamination in rivers: the relative toxic effect of sediment versus water contamination. Environmental Toxicology and Chemistry 26(9): 1968-1977.
- Ferrari, B. J. D., Vignati, D. A. L., Dominik, J. (2008). The "Swiss" 2-tiered approach for in situ assessment of metal bioavailability and toxicity at the sediment-water interface, SETAC, Warsaw.

- Ferreira, D., Tousset, N., Ridame, C., Tusseau-Vuillemin, M.H. (2008) More than inorganic copper is bioavailable to aquatic mosses at environmentally relevant concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (10):2108-2116.
- Ferreira, D., Ciffroy, P., Tusseau-Vuillemin, M.H., Garnier, C., Garnier J.M. (2009) Modelling exchange kinetics of copper at the water-aquatic moss (*Fontinalis antipyretica*) interface: Influence of water cationic composition (Ca, Mg, Na and pH). *Chemosphere* 74: 1117-1124.
- Foster, A. M., Fuller, P., Benson, A., Constant, S., Raikow, D. (2009). *Corbicula fluminea*. United States Geological Survey Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL.: <http://nas.er.usgs.gov/queries/factsheet.asp?SpeciesID=92>.
- Garric, J., Geffard, O. (2007a). Mise au point de biotests au laboratoire et in situ sur des espèces représentatives du milieu naturel: crustacé *Gammarus pulex*, mollusques gastéropodes (*Potamopyrgus antipodarum*, *Valvata piscinalis*). 23p.
- Geeraerts, C., Ovidio, M., Verbiest, H., Buysse, D., Coeck, J., Belpaire, C., Philippart, J. C. (2007). Mobility of individual roach *Rutilus rutilus* (L.) in three weir-fragmented Belgian rivers. *Hydrobiologia* 582: 143-153.
- Gerdeaux, D., Perret, M. C., Corvi, C., Khim-Heang, S., Becker van Slooten, K., Tarradellas, J., Riviere, J. L., Larbaigt, G. (1995). Caractéristiques des populations de Dreissènes du Léman. Evaluation de leur intérêt comme bioindicateur de la qualité des eaux du lac. Rapp. Comm. int. prot. eaux Léman contre pollut., Campagne 1994: 135-165.
- Hebert, C. E., Keenleyside, K. A. (1995). To normalize or not to normalize? Fat is the question. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14(5): 801-807.
- Hellawell, J. M. (1986). Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. London & New York, Elsevier Applied Science Publishers.
- Hendriks, A. J., Pieters, H., De Boer, J. (1998). Accumulation of metals, polycyclic (halogenated) aromatic hydrocarbons, and biocides in zebra mussel and eel from the Rhine and Meuse rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17(10): 1885-1898.
- Herve, S., Paasivirta, J., Heinonen, P. (2001) Trends of Organochlorine Compounds in Finnish Inland Waters: Results of Mussel Incubation Monitoring 1984-1998. *Environmental Science and Pollution Research* 8 (1): 19-26.
- Herve, S., Heinonen, P., Paasivirta, J. (2002). Survey of organochlorines in Finnish watercourses by caged mussel method. *Resources, Conservation and Recycling* 35: 105-115.
- Kegley, S. E., Hill, B. R., Orme, S., Choi, A. H. (2009). PAN Pesticide Database. Pesticide Action Network, North America, San Francisco, CA.
- Kimbrough, K. L., Johnson, W. E., Lauenstein, G. G., Christensen, J. D., Apeti, D. A. (2008). An assessment of two decades of contaminant monitoring in the nation's coastal zone. Silver Spring, MD. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74. 105p.
- Klein, R., Bartel, M., Neitzke, M., Nentwich, K., Paulus, M., Quack, M., Wagner, G. (2003). Guideline for sampling and sample treatment for Bream (*Abramis brama*). Federal Environment Agency. Environmental Species Banking des Bundes - Guidelines for Sampling, Transport, Storage, and Chemical Characterisation of Environmental- and Human Organ Samples.
- Kraemer, L. D., Campbell, P. G. C., Hare, L. (2005). Dynamics of Cd, Cu and Zn accumulation in organs and sub-cellular fractions in field transplanted juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Environmental Pollution* 138: 324-337.
- Kramer, K.J.M., (1995). Quality assurance of sampling and sample handling for trace metal

- analysis in aquatic biota. In: Quality assurance in environmental monitoring. Sampling and sample pretreatment; Ph. Quevauviller (ed). VCH Publ., Weinheim, pp. 179-214
- LAEPS (2006). Suivi de la pollution métallique de l'Arve. Rapport final, SM3A, Bonneville.
- Lochet, A., Maury-Brachet, R., Poirier, C., Tomas, J., Lahaye, M., Aprahamian, M., Rochard, E. (2008). Mercury contamination and life history traits of Allis shad *Alosa alosa* (Linnaeus, 1785) and Twaite shad *Alosa fallax* (Lacépède, 1803) in the Gironde estuary (South West France). *Hydrobiologia* 602: 99-109.
- Maes, J., Belpaire, C., Goemans, G. (2008). Spatial variations and temporal trends between 1994 and 2005 in polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and heavy metals in European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Flanders, Belgium. *Environmental Pollution* 153: 223-237.
- Marie, V., Baudrimont, M., Boudou, A. (2006). Cadmium and zinc bioaccumulation and metallothionein response in two freshwater bivalves (*Corbicula fluminea* and *Dreissena polymorpha*) transplanted along a polymetallic gradient. *Chemosphere* 65: 609-617.
- Martins, J. C., Leao, P. N., Vasconcelos, V. (2009). Differential protein expression in *Corbicula fluminea* upon exposure to a *Microcystis aeruginosa* toxic strain. Doi: 10.1016/j.toxicon.2008.12.022.
- MEDAD (2007). Circulaire du 7 mai 2007 définissant les normes de qualité environnementale provisoires (NQE<sub>p</sub>) des 41 substances impliquées dans l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau ainsi que des substances pertinentes du programme national de réduction des substances dangereuses dans l'eau. MEDAD 2007/15 - Texte 17/36: 13p.
- MEDD (2005). Arrêté du 30 juin 2005, relatif au programme nation d'action contre la pollution des milieux aquatiques par certaines substances dangereuses. Journal officiel de la république française du 13 juillet 2005. Texte 53/178.
- Meregalli, G., Vermeulen, A. C., Ollevier, F. (2000). The use of chironomid deformation in an in situ test for sediment toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 47: 231-238.
- Mersch, J. (1993). Modalités d'utilisation de la moule zébrée *Dreissena polymorpha* en tant qu'indicateur biologique de la contamination des écosystèmes d'eau douce par les métaux lourds. Comparaison avec un autre type d'organismes sentinelles, les mousses aquatiques. Thèse de doctorat. Université de Metz. 213p.
- Mersch, J., Morhain, E., Mouvet, C. (1993). Laboratory accumulation and depuration of copper and cadmium in the freshwater mussel *Dreissena polymorpha* and the aquatic moss *Rhynchostegium riparioides*. *Chemosphere* 27(8): 1475-1485.
- Minier, C., Abarnous, A., Jaouen-Madoulet, A., Le Guellec, A. M., Tutundjian, R., Bocquené, G., Leboulenger, F. (2006). A pollution-monitoring pilot study involving contaminant and biomarker measurements in the Seine estuary, France, using Zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(1): 112-119.
- Mouvet, C., Gallissot, B., Cordebar, P., Roger, P., Morhain, E., Ollivier, M., Ribette, M. (1986b). Dosages de PCBs et de métaux lourds dans les mousses aquatiques de la Seine entre Melun et Port Jerome. 68p.
- Mouvet, C., Galoux, M., Bernes, A. (1985). Monitoring of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hexachlorocyclohexanes (HCH) in freshwater using the aquatic moss *Cinclidotus danubicus*. *The Science of the Total Environment* 44: 253-267.
- Newman, M. C., Unger, M. A. (2003). *Fundamentals of ecotoxicology*, 2nd edition. Lewis Publishers, CRC Press LLC.

- Noppé (1996). Contamination métallique des sédiments des cours d'eau du bassin Artois-Picardie et son impact sur la contamination des chairs et des foies de poissons.
- OSPAR (1999). JAMP Guidelines for monitoring contaminants in biota. (OSPAR agreement 1999-2): 71p.
- Phillips, D. J. H. (1980). Quantitative aquatic biological indicators. Their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. London, Applied Science Publishers.
- RNDE (1999). Les micropolluants dans les cours d'eau. 3 années d'observations (1995 à 1997). 12p.
- RNO (1996). Surveillance du Milieu Marin. Travaux du RNO. Edition 1996. Ifremer et Ministère de l'Environnement. 32p.
- RNO (1999). Surveillance du Milieu Marin. Travaux du RNO.
- Robillard, S., Beauchamp, G., Laulier, M. (2003). The role of abiotic factors and pesticide levels on enzymatic activity in the freshwater mussel *Anodonta cygnea* at three different exposure sites. *Comparative Biochemistry and Physiology* 135(Part C): 49-59.
- Samecka-Cymermana, A., Kolon, K., Kempers, A. J. (2002). Heavy Metals in Aquatic Bryophytes from the Ore Mountains (Germany) *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52(3): 203-210.
- Schiavone, S., Coquery, M. (2009). Méthodes de référence existantes pour l'analyse des substances prioritaires dans les sédiments et les biotes. 40p.
- Schofield, P. J., Williams, J. D., Nico, L. G., Fuller, P., Thomas, M. R. (2005). Foreign Nonindigenous Carps and Minnows (Cyprinidae) in the United States. A guide to their Identification, Distribution, and Biology : U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2005-5041. 103p.
- Sousa, R., Nogueira, A. J. A., Gaspar, M. B., Antunes, C., Guilhermino, L. (2008). Growth and extremely high production of the non-indigenous invasive species *Corbicula fluminea* (Muller, 1774): Possible implications of ecosystem functioning. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80: 289-295.
- Tapie, N., Budzinski, H., Elie, P., Gonthier, P. (2006). Contamination en polychlorobiphényles (PCB) des anguilles du système fluvio estuarien de la Gironde. 58p.
- Thome, J. P., Leroy, D. (2007). Impact de la contamination métallique et organique sur la faune piscicole. Les rencontres scientifiques de l'Agence de l'Eau. 67p.
- Tipping, E., Vincent, C. D., Lawlor, A. J., Lofts, S. (2008). Metal accumulation by stream bryophytes, related to chemical speciation. *Environmental Pollution* in press: 1-8.
- UNEP/MAP (1997). A regional site specific temporal trend monitoring programme. (UNEP(OCA)/MED IG.11/Inf.10 ): 31p.
- USEPA (2000). Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. 2nd edition. EPA-600/R-99/064. Testing manual. U.S. Environment Protection Agency, Duluth, USA. 133p.
- van der Oost, R., Opperhuizen, A., Satumalay, K., Heida, H., Vermeulen, N. P. E. (1996). Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*): I. Bioaccumulation: biota-sediment ratios of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquatic Toxicology* 35(1): 12-46.
- Vincent, C. D., Lawlor, A. J., Tipping, E. (2001). Accumulation of Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Cd and Pb by the bryophyte *Scapania undulata* in three upland waters of different pH. *Environmental Pollution* 114: 93-100.

- Vithaya, J. (1998). Contamination des poissons et des sédiments par les métaux traces et les composés aromatiques dans les cours d'eau du bassin Artois-Picardie. 29p.
- Wagner, G., Bertel, A., Klein, R., Neitzke, M., Nentwich, K., Paulus, M., Quack, M. (2003). Guideline for sampling and sample treatment for zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). Federal Environment Agency. Environmental Species Banking des Bundes. Guidelines for Sampling, Transport, Storage, and Chemical Characterisation of Environmental and Human Organ Samples.
- WG-Eel (2006). FAO European Inland Fisheries Advisory Commission; International Council for the Exploration of the Sea. Report of the 2006 session of the Joint EIFAC/ICES Working Group on Eels. Rome, 23–27 January 2006. EIFAC Occasional Paper. No. 38, ICES CM 2006/ACFM:16. Rome, FAO/Copenhagen, ICES. 352p.



## Annexes

### Annexe 1. Les méthodologies appliquées aux mousses aquatiques (bryophytes)

Espèces étudiées	Objectifs d'étude	Méthode de surveillance Passive/active	Nombre de compagnes	Méthode de prélèvement	Tissu analysé	Volume prélevé	Micropolluants analysés	Résultats	Références
<i>Scapania undulata</i>	Comparer l'accumulation des métaux dans les cours d'eau ayant des pH différents  Evaluer la corrélation entre la bioaccumulation et la spéciation chimique	autochtones	5 fois en un mois et demi	Prélevées en duplicats  Lavage plusieurs fois et essorés sur place	2 cm de l'apex	200 mg PS (~200 apex)	Al Cd Mn Pb Cu Fe Zn	L'accumulation varie avec le pH des cours d'eau et la concentration du métal en dissoute.  L'adsorption des métaux augmente avec le pH	Vincent <i>et al.</i> , 2001
<i>Platyhypnidium riparioides</i> <i>Scapania</i> sp. <i>Fontinalis antipyretica</i>	Evaluer le niveau de pollution par l'accumulation des métaux dans les bryophytes autochtones  Comparer l'accumulation des métaux avec celle dans les bryophytes dans les cours d'eau non pollués	autochtones	1 fois	Prélevées en triplicats	3-4 cm de l'apex	200 mg PS	Fe Zn Al Cu Ba Pb Co Cd Cr Ca Mn Mg Ni K Sr V	Pour certains sites Cd, Cu, Zn, Pb et Co dépassent les valeurs de référence.  Les bryophytes sont représentatives de la pollution sur une période de temps court et intermédiaire des sites étudiés	Samecka-Cymerman <i>et al.</i> , 2002
<i>F. antipyretica</i> <i>F. dalecarlica</i>	Comparer l'accumulation de Cd <sup>2+</sup> et la réponse au stress intracellulaire entre deux espèces de <i>Fontinalis</i> provenant de deux sites en Allemagne et au Canada	autochtones	1 fois (pour cultiver dans le labo)	Prélevées en triplicats / 3 échantillons	3-4 cm de l'apex	200mg PF	Cd <sup>2+</sup>	L'adsorption de Cd, temps dépendant, est différente entre les deux espèces due au nombre de sites de liaison et différence des surfaces des feuilles.	Bleuel <i>et al.</i> , 2005
<i>C. danubicus</i>	Evaluer l'utilisation des bryophytes pour la surveillance des PCB et des pesticides organochlorés	allochtones	Exposition des cages pendant 13, 24 et 51 jours en été	-	12 g des plantes ont été exposés	-	PCBs HCHs	En aval de la source de pollution les [PCB] sont de 0,30 µg/g PS. Les [PCB] en aval sont plus élevées  Les [HCH] sont différentes entre les sites mais une évolution en fonction du temps est observée	Mouvet <i>et al.</i> , 1985

## Annexe 2. Les différentes études permettant de valider l'utilisation de *Dreissena polymorpha* en tant que biomoniteur

(1) *Nota bene* : la partie d'organisme analysée pour toutes les études a été le tissu mou (2) MZ = moule zébrée ; BC=bioconcentration ; LD=Limite de détection ; N.A. =non appliqué ; N.D.=non déterminé ; PL=poids lipide ; Sb=Stibium

Type et objectif de l'étude (Milieu continental et région étudiée)	Prélèvement : Période et fréquence	Individus prélevés aux sites de référence	Nombre d'individus/cage (taille)	Nombre de cages/ site	Mode d'exposition des cages	Micro- polluants analysés	Unités	Résultats	Références
<b>➤ Etudes de surveillance</b>									
Evaluer l'état de la contamination par les POPs (Lacs subalpins, Italie)	Mai 2003, pdt 2 semaines	N.A. Espèces autochtones	~200 individus* (>15 mm) *Espèces autochtones	N.A.	N.A.	DDTs PCBs HCB HCHs	ng/g lipide	Les contaminants sont bien présents et parfois plus élevés comparés à la campagne de 1996. Tendance temporelle à confirmer	Riva <i>et al.</i> , 2008
Présenter les résultats d'un programme de surveillance avec une durée de 2 ans (analyses chimiques et biologiques) (Estuaire, partie eau douce, France)	Juillet et septembre et pour une étude temporelle 1 fois/mois (1997) et 1 fois tous les 2 mois (1998)	N.A. Espèces autochtones	~250 individus total* (20-27 mm) *Espèces autochtones	N.A.	N.A.	PCBs PAHs	ng/g PS	Les concentrations des PCB dont 20 congénères (800 ng/gPS) et des PAH dont 14 composés (1000 ng/g PS) accumulées par les MZ montrés que l'estuaire de la Seine est fortement pollué et que leurs prédateurs sont à risque de contamination. Les impacts biologiques ont été également détectés dans les MZ (une baisse dans la stabilité lysosomale et une hausse des protéines de multixénobiotique résistantes)	Minier <i>et al.</i> , 2006
Evaluer les concentrations des contaminants dans la moule zébrée et <i>Dreissena bugensis</i> et déterminer le potentiel des deux bivalves en tant que biomoniteur. (rivière, Canada)	Septembre et octobre	N.A. Espèces autochtones	~150/site (15-25 mm)	N.A.	N.A.	Métaux Organochlorés PCBs PCDD PCDF	µg /g PS (métaux) ng/g PS (organiques)	Les concentrations des métaux (Cd, Cu et Mn) sont plus élevées dans les moules de grande taille que celles de petite taille. Pas de différences significatives des concentrations des contaminants organiques entre les classes de taille	Richman et Somers, 2005

Type et objectif de l'étude (Milieu continental et région étudiée)	Prélèvement : Période et fréquence	Individus prélevés aux sites de référence	Nombre d'individus / cage (taille)	Nombre de cages/ site	Mode d'exposition des cages	Micro-polluants analysés	Unités	Résultats	Références
Le suivi des métaux et micropolluants dans l'eau et le biote, campagne 2004 (lac Léman, programme CIPEL)	Juin et juillet	N.A. Espèces autochtones	N.D.*. *Espèces autochtones	N.A..	N.A..	Métaux Organoétain s	mg/kg PS µg/g PS	Faibles concentrations de tributylétain et des métaux (sauf le Pb et le Cd qui sont plus élevés sur certains sites) par rapport aux campagnes précédentes	Corvi et al., 2005
Evaluer la contamination métallique (lacs subalpins , Italie)	Juin	N.A. Espèces autochtones	~200 individus* (>17 mm) *Espèces autochtones	N.A.	N.A.	Métaux (Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn)	µg/g PS	Avec les concentrations détectées dans les MZ les lacs ont été classés en terme de leur qualité.  Les concentrations de Cd et de Hg dans les MZ du lac Maggiore sont de 3,44 et 0,158 µg/g PS et 2,03 et 11,9 µg/g PS dans le lac Lugano	Camusso <i>et al.</i> , 2001
1) Montrer la présence des substances prioritaires et non prioritaires dans les MZ et l'anguille jaune des rivières Rhine et Meuse  2) Déterminer la bioamplification chez l'anguille jaune (rivières, Pays-Bas)	Avril, pdt 6 semaines		10 à 25 individus exposés  Nb par cage N.D.	N.D.	Corde attachée aux branches au-dessus de l'eau  Distance entre le fond de la rivière et les moules : 30-50 cm	Métaux (Hg, Cd, Pb, Zn, Cr, Mn, Sb)  Organohalogènes (PAH, PHAH)  Biocides	µg/kg PF (métaux)  Mmol/kg PL (organiques)	(cf. Annexe 4)	Hendricks <i>et al.</i> , 1998
<b>&gt; Etudes de bioaccumulation et de validation</b>									
Evaluer les différences de bioaccumulation entre la MZ transplantée et résidente (Canaux et lacs, Belgique)	Août (soit juillet), pdt 6 semaines	100	25 (17 à 20 mm)	3	Sécurisés par une corde accrochée au bord du l'eau  Suspendus librement de 30 cm sous la surface	12 métaux PCBs Pp'DDE HCB PBDEs	µg/g PS (métaux)  ng/g PF (organiques)	MZ transplantée peuvent être exposées aux sites pollués et non pollués  différences observées entre les niveaux des métaux	Bervoets et al., 2004b

Type et objectif de l'étude (Milieu continental et région étudiée)	Prélèvement : Période et fréquence	Individus prélevés aux sites de référence	Nombre d'individus/cage (taille)	Nombre de cages/ site	Mode d'exposition des cages	Micro- polluants analysés	Unités	Résultats	Références
Etudier l'efficacité de la MZ et son utilisation pour la surveillance active (Belgique, nord)	Fin été, début autonome  (cages exposées entre 1 et 28 j)	N.D.	20  (20-25 mm)	5	Sécurisés par une corde accrochée au bord du l'eau  Suspendus librement	N.A.	N.A.	Confirme que la méthode est facile à appliquer, et aussi très sensible	Smolders <i>et al.</i> , 2002
Evaluer la biodisponibilité de divers contaminants et étudier la MZ en tant qu'espèce sentinelle et pendant une période de croissance dans la rivière Mississippi.	Mai à octobre	N.D.  Les MZ ont colonisé des blocs de béton puis ont été couvertes avec un sac de polyéthylène	(10-20 mm)  1 composite = min 75g de tissu  PF moyen d'un seul MZ/composite = 317 mg  Nb moyen/composite = 280	N.D.	Les « cages » ont été sécurisées par une corde et suspendues dans la rivière de 0,5m du fond.	Total Hg et Cd,  MeHg  PCB  Organochlorés	ng/g PF	MZ ont accumulé des concentrations mesurables pendant 143 j  Elles sont représentatives des tendances longitudinales des contaminants dans la rivière	Cope et al., 1999
Etudier l'efficacité de la moule zébrée en tant que biomoniteur face aux pollutions chroniques dont les organochlorés  Mesurer l'activité de BC des organochlorés et la comparer avec celle chez le poisson (Lac périurbain, Sud de Paris)	4 fois dans un seul an dont : mi-mars, début juillet, début octobre et fin mars (de l'an suivant)	N.A.	5 lots de 30-150 individus classés par taille  (12 à 20 mm)	Chaque lot divisé en 3 sous-lots et repartis dans des cages grillagées (n° des sites ND)	N.D.	PCB  aHCH  yHCH  pp'DDE	µg/kg PS	L'activité de bioconcentration suffisant pour évaluer des concentrations inférieures aux LD  Facteurs de bioconcentration à peine plus faible que chez les poissons	Chevreuil et Testard <i>et al.</i> , 1991

### Annexe 3. Recommandations pour l'échantillonnage des larves de *Chironomus riparius* transplantées<sup>1,2</sup> et autochtones<sup>3,4</sup>

Larves transplantées	
Nombre de larve/par cage	50 individus
Profondeur de la couche de sédiments	3 à 5 cm
Stade larvaire à l'utiliser	2 <sup>ème</sup> stade (pour la mise en cage) 4 <sup>ème</sup> stade (pour les analyses chimiques)
Durée d'exposition	3 à 4 semaines
Fréquence de prélèvement	Avant la fin du 4 <sup>ème</sup> stade larvaire (entre 11 <sup>ème</sup> et 16 <sup>ème</sup> jours après exposition)
Larves indigènes	
Prélèvement/collecte des larves	Collecter 10 cm de sédiment de surface Pour récupérer les larves, utiliser un tamis avec les mailles de 500 µm <sup>3,4</sup> (ou 200 µm) <sup>2</sup> Garder les larves du 4 <sup>ème</sup> <b>stade larvaire</b> pour les analyses
Préparation avant analyse	Rincer avec de l'eau déminéralisée et les mettre dans les fioles en polypropylène lavées à l'acide Sécher pendant 24h à 60°C, digérer avec de l'acide nitrique concentré dans un digesteur micro-onde.
Période de prélèvement	L'hiver (décembre et janvier) ??
Biomasse pour les analyses	
	5 à 10g poids frais <sup>5</sup>
Contaminants recherchés	
	métaux

1) Meregalli *et al.*, 2000 ; 2) Bervoets *et al.*, 2004a ; 3) Bervoets *et al.* 1994; 4) Bervoets *et al.*,1997; 5) Crawford et Luoma, 1994

#### Annexe 4. Les méthodologies appliquées pour l'échantillonnage des espèces piscicoles

Espèces étudiés	Objectifs d'étude	Nombre d'individus prélevés par site	Taille d'individus (cm)	Age / sexe	Période de prélèvement	Fréquence de prélèvement	Tissu analysé	Micro-polluants analysés	Unité de mesures	Résultats	Références
<i>Alosa alosa</i> <i>Alosa fallax</i>	Evaluer la [Hg] dans les deux espèces dans le stade adulte provenant de l'estuaire du Gironde  Analyser la relation entre [Hg] et les différents paramètres biologiques (temps de résidence des juvéniles dans l'estuaire, âge, taille, nb de périodes de fraie)	20 adultes de chaque espèce	<i>A. alosa</i> : 54 – 59  <i>A. fallax</i> : 36 – 44	10 femelles/espèce  10 males/espèce	Pendant la période de fraie :  <i>A. alosa</i> : entre 23 avril et 5 mai 2003  <i>A. fallax</i> : entre 12 et 26 mai 2003	1 seule fois	branchies  muscle  foie  reins	Hg total	µg/g PS	[Hg] chez <i>A. fallax</i> sont plus élevées que chez <i>A. alosa</i>  Chez <i>A. fallax</i> les [Hg] sont plus élevées dans les individus de grande taille.  Pas de relation des [Hg] avec les tranches d'âge et avec le temps de résidence des juvéniles dans l'estuaire.	Lochet <i>et al.</i> , 2008
<i>Anguilla anguilla</i>	Evaluation spatiale et temporelle des micropolluants dans le biote	5-10/site 237/an (moyenne)	42 (moyenne) 153 g	stade jaune	entre mars et octobre	2 fois/an	muscle	Métaux  PCB  Pesticides (Lindane, HCB, Aldrin, Dieldrin, Endrin, αHCH...)	ng/g PF	Observé une basse significative des concentrations des substances interdites  Pour l'analyse spatiale, la variation des concentrations des contaminants a été élevée	Maes <i>et al.</i> , 2008
<i>Anguilla anguilla</i>	1) Montrer la présence des substances prioritaires et non prioritaires dans les MZ et l'anguille jaune des rivières Rhine et Meuse  2) Déterminer la bioamplification chez l'anguille jaune	Echantillon composite de 25 à 70 individus/ site	ND	stade jaune	avril - juin	ND	muscle	Métaux (Hg, Cd, Pb, Zn, Cr, Mn, Sb)  Organohalogènes (PAH, PHAH) Biocides	µg/kg PF	Les résultats varient entre les échantillons.  les contaminants les plus présentes dans les deux espèces ont été PAH et PCB  Les concentrations des contaminants dans l'anguille de Meuse ont été 10% plus élevée que celle dans le Rhine	Hendricks <i>et al.</i> , 1998

Espèces étudiés	Objectifs d'étude	Nombre d'individus prélevés par site	Taille d'individus (cm)	Age / sexe	Période de prélèvement	Fréquence de prélèvement	Tissu analysé	Micro-polluants analysés	Unité de mesures	Résultats	Références
<i>Anguilla anguilla</i> <i>Salmo trutta</i> <i>Barbus barbus</i>	Capacités d'accumulation Différences entre espèces Tendances géographiques Risques sanitaires (données comparées avec les taux d'OMS-TEQ)	14 individus/ espèce sur 17 sites	Sélection par taille estimée homogène afin d'éviter des effets taille (et donc age)/contamination	ND	février	1 seule fois	muscle	Métaux traces	µg/g PF (métaux) ng/g PF (PCBs et DDTs) pg/g PF (PCDD/F)	[métaux] (Cd 0,0049 µg/g PF ; Pb 0,1018 µg/g PF ; Cu 0,977 µg/g PF) et [PCB] (maximum 126 ng/g PF) sont plus élevées chez <i>A. anguilla</i> que les 2 autres espèces  Une tendance des concentrations n'a pas été observée entre les espèces	Bordajandi <i>et al.</i> , 2003
<i>Perca fluviatilis</i> <i>Rutilus rutilus</i>	Déterminer les stations pour le suivi des micropolluants  Etudier le niveau de contamination au long du chaîne trophique (poisson et mollusques) ainsi que la relation entre poisson, eau et sédiments  Evaluer les effets des micropolluants sur les populations et les facteurs biologiques (reproduction, nourriture...).	3-7 par site (dont 7 sites)	10-15	adulte	avril et mai	1 seule fois	corps entier muscle	PCBs Pesticides (Lindane, HCB, pp'DDE)	µg/kg PS µg/kg PF mg/kg lipides	Pas de corrélation entre la biodisponibilité et la taille des espèces  [PCB] total sont légèrement plus élevées chez <i>P. fluviatilis</i> ; par contre le poids lipide est 2 fois plus élevé chez <i>R. rutilus</i>  Concentrations sont 6 fois plus élevées chez <i>R. rutilus</i> que chez les mollusques	Chevreuil <i>et al.</i> , 1995a
<i>Perca fluviatilis</i> <i>Salvelinus alpinus</i> <i>Lota lota</i> <i>Coregonus sp</i>	Suivi des micropolluants dans diverses espèces piscicoles	entre 25 et 35	16.5 – 20 30 – 48 27.8 – 32.7 33.5 – 40.5	juvénile et adulte mâles et femelles	septembre décembre entre février et mars mars	1 fois tous les 3 ou 4 an	filet peau	Hg PCB Pp'DDE	µg/kg MF	[PCB] plus élevées chez <i>S. alpinus</i> (221 µg/kg PF en moyenne)  [Hg] < 500 µg/kg dans toutes les espèces, mais les concentrations sont légèrement plus élevées par rapport aux campagnes précédentes	Corvi <i>et al</i> 2005

PS = poids sec ; PF = poids frais ; [n] = concentration



**Annexe 5. Description de différents programmes de surveillance internationaux pour le milieu continental et les méthodes d'échantillonnage appliquées**

Pays	Programme	Objectifs	Milieu continental	Biote (espèce)	Nombre d'individus prélevés	Age, taille et/ou poids	Fréquence et Période d'échantillonnage	Tissu analysé	Micro-polluants analysés	Références
<b>Suisse</b>	CIPEL	Sanitaire Environnemental	Lac	<i>Dreissena polymorpha</i> (autochtones)  Poissons : Perche ( <i>P. fluviatilis</i> ) Lottes ( <i>Lota lota</i> ) Corégones ( <i>Coregonus</i> sp.) Ombles chevaliers ( <i>Salvelinus alpinus</i> )	Entre 130 et 530 (variable selon les sites) par site (dont 12 sites)  Poissons (le nombre d'individus varie selon les campagnes): 8 males & 27 femelles 17 males & 18 femelles 13 males & 17 femelles 13 males & 17 femelles	Tailles (cm) des dreissènes : entre 1.0 et 3.0  Age et Taille médiane (mm) des poissons : Age N.D., 173 mm, 2 à 3 ans, 299 ≥ 2 ans, 365 Age N.D, 402	non renseigné  Fréquence des pêches selon les objectifs annuels, sinon tous les 4 ans  Période des pêches : Septembre Février ou mars Mars décembre	Dreissène : corps entier (sans les coquilles)  Poissons : muscle et peau	Organoétains, Métaux (dreissène)  Hg, PCBs (poissons),	<a href="http://www.cipel.org">www.cipel.org</a> (documentation publications)  Corvi <i>et al.</i> , 2001; Corvi <i>et al.</i> , 2005
<b>Allemagne</b>	Ifu (Bavière)	Environnemental	Cours d'eau	Barbeau, brème, gardon, anguille et chevaine  <i>Dreissena polymorpha</i>	5-6/site (pour 50 sites)  SA : 150-300 individus/cage/site 20-30 individus (sans coquille) de chaque site sont homogénéisés et lyophilisés avant analyse	Minimum 250g  Age et taille peuvent être variable	1/an septembre-novembre  2x/an sur 12 sites  Exposition des cages : 6 mois (avril à octobre et octobre à avril)	Foie (composées organiques) Muscle (métaux et selon les espèces piscicole analysées les composées organiques) Rate (métaux) Corps entier de la dreissène (métaux et composés organiques)	PCB, HCB, HCBD, Pentachlorobenzène, Trichlorobenzène, Alkylphénols, HHCB, DEHP, Triclosan, Méthyltriclosane et 13 métaux	Communication personnelle (Suzanne van de Graaff, LfU)

Pays	Programme	Objectifs	Milieu continental	Biote (espèce)	Nombre d'individus prélevés	Age /taille/poids	Fréquence et Période d'échantillonnage	Tissu analysé	Micro-polluants analysés	Références
Allemagne	Agence nationale pour l'environnement (UBA)	Environnemental	Cours d'eau	<i>Abramis brama</i>	20	8-12 ans	1/an août et septembre	Muscle et foie	SP SE	Klein <i>et al.</i> , 2003
				<i>Dreissena polymorpha</i> (SA)	min 100	15-25 mm	1/an entre mi-septembre et fin novembre  Exposition des cages : 6 mois-1 an	Tissus mous		
Suède	SEPA	environnemental	Lacs	Perche Ombles chevaliers Gardon	10/échantillon pour les MPO  10 individus pour les MTX	Perche : 15-20cm et entre 4 et 8 ans  Ombles chevaliers : 20-25cm  Gardon : 15-20cm	1/an  50 échantillons	Muscle (POP & Hg)  Foie (MTX & composés perfluorés)	POPs, mercure et autres métaux, et substances perfluorées	Communication personnelle (Elisabeth Nyberg, Musée suédoise pour l'histoire naturelle),
Finlande	National environmental monitoring programme	Environnemental	Lacs Réservoirs	Moule ( <i>Anodonta piscinalis</i> ) -mise en cage	-	non renseigné	1 mois pdt juillet et août	Muscle (POP & Hg)  Foie (MTX et composés perfluorés) (pas routine)	SE SP	Jaako Mannio (comm. Personnelle)
				Perche ( <i>P. fluviatilis</i> )			1/an			

Pays	Programme	Objectifs	Milieu continental	Biote (espèce)	Nombre d'individus prélevés	Age /taille/poids	Fréquence et Période d'échantillonnage	Tissu analysé	Micro-polluants analysés	Références
Etats-Unis	NAWQA	environnemental	Lacs Rivières	Mollusques bivalves ( <i>Corbicula fluminea</i> )  Larve d' insectes (Trichoptera, Chironomidae, Plecoptera)  Poissons ( <i>Cyprinus carpio</i> , <i>Catostomus</i> sp., <i>Ictalurus punctatus</i> , <i>Micropterus salmoides</i> , <i>Lepomis macrochirus</i> , <i>Salmo trutta</i> )  Plantes vasculaires ( <i>Potamogeton</i> sp., <i>Hydrilla verticillata</i> , <i>Elodea</i> sp.)	MTX :10 individus /3 composites  (5g-10gPF pour les analyses  MPO : 50individus/ 1composite avec 50 individus (50g-100gPF pour les analyses  20+ individus/ composite de la même espèces ! 5g-10g PF pour analyse des MTX  adultes, même espèce, même taille  5-10 individus/composite	Non renseigné	Non renseigné	Tissu mou      Tissu mou (il faut enlever les carapaces )   Foie (pour les MTX)  Corps entier (pour les MPO)	HAPs Organochlorés Butachlor, Isopropalin, Trifluralin, HCB, PCNB, Divers produits industriels PCBs Dioxines et furannes chlorés ? 10 MTX	Crawford et Luoma, 1994

CemOA : archive ouverte d'Irstea / Cemagref

SA = surveillance active ; PF = poids frais ; N.D. = non déterminé ; MTX = métaux ; MPO = micropolluants organiques ; SE = substances émergentes, SP = substances prioritaires

## Annexe 6. Guides techniques pour l'échantillonnage du biote pour la surveillance chimique

Titre	Milieu aquatique ciblé	Biote ciblé	Source
Guideline for sampling and sample treatment for Bream ( <i>Abramis brama</i> ).	continental	Brème	Klein <i>et al.</i> , 2003
Guideline for sampling and sample treatment for zebra mussels ( <i>Dreissena polymorpha</i> )	continental	Dreissène	Wagner <i>et al.</i> , 2003
Guide technique. Le prélèvement d'échantillons en rivière: techniques d'échantillonnage en vue d'analyses physico-chimiques	continental	Bryophytes	AE, 2006
Plan national d'actions sur les polychlorobiphényles (PCB). Axe 3.2 : Plan national d'échantillonnage des poissons en milieux aquatiques. Réseau de suivi de la contamination des poissons	continental	Poissons	AFSSA, 2008
Guidelines for studies of contaminants in biological tissues for the National Water-Quality Assessment Program	continental	Mollusques bivalves Larve d'insectes Poissons Plantes vasculaires	Crawford et Luoma, 1994
JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota	Marin	Poissons Mollusques bivalves Oiseaux	OSPAR, 1999
Quality assurance of sampling and sample handling for trace metal analysis in aquatic biota.	Marin et continental	Macrophytes, bivalves et autres invertébrés, poisson et mammifères	Kramer, 1995

