

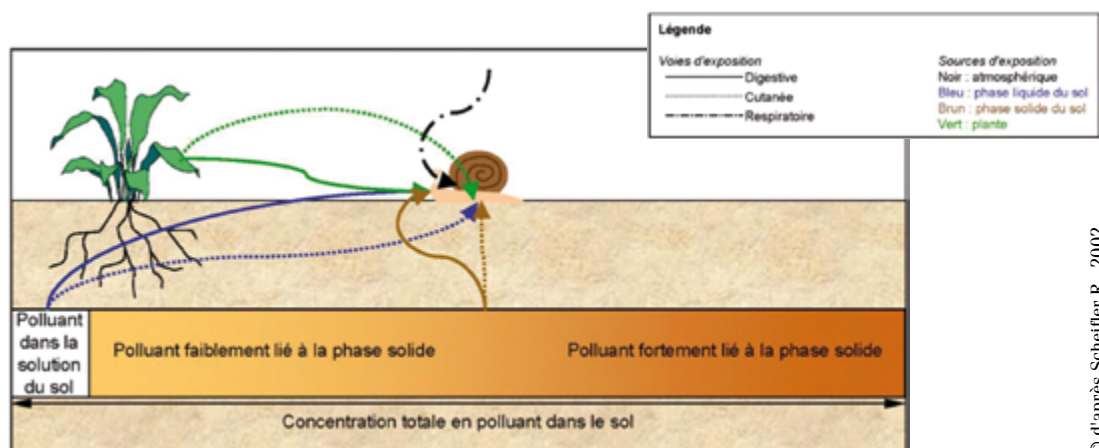
# LA BIODISPONIBILITÉ ENVIRONNEMENTALE

## LES INDICES SET ET ERITME, BIO-INDICATEURS D'ACCUMULATION

### DESCRIPTION DU PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

Les indices SET (Somme des Excès de Transferts) et ERITME (Evaluation of the Risk of the Transferred Metal Elements soit évaluation des risques environnementaux) sont des techniques biologiques qui permettent d'établir un classement du site selon un référentiel spécifique et d'apprécier les risques potentiels pour son / ses écosystèmes. La méthode est basée sur l'exposition d'escargots au sol du site étudié, soit en cages sur le site soit en laboratoire. À l'issue de l'exposition, une analyse permet d'estimer les polluants bio-accumulés dans les viscères des animaux et de calculer les deux indices.

Les escargots sont des bio-indicateurs d'accumulation dans les tissus vivants. Les indices SET et ERITME montrent les transferts et les effets réels entre le sol et les organismes et donc la biodisponibilité des polluants. **L'indice SET** caractérise la biodisponibilité c'est-à-dire qu'il met en évidence les excès de transfert de polluants métalliques du sol vers les escargots d'un sol pollué par rapport à un sol non pollué. **L'indice ERITME** permet de mesurer le risque lié à ces transferts de polluants. Une étude cinétique de l'assimilation des polluants est également possible.



© d'après Scheffler R., 2002

*L'exposition d'escargots sur le site d'étude permet d'estimer les transferts de polluant vers les premiers maillons d'une chaîne trophique.*

### CONTEXTE D'UTILISATION

**Les indices SET et ERITME sont utilisables sur la plupart des sites. Ils apportent une image réelle et ponctuelle de la mobilité des polluants vers l'environnement et les risques associés, en complément des analyses chimiques classiques qui permettent de caractériser la pollution.**

Lors de la réalisation d'une exposition *in situ* il faut tenir compte des conditions climatiques extrêmes (inondation ou sécheresse) et éviter les périodes de gel. Il est également indispensable que le site présente un minimum de végétation, ce qui permettra aux escargots de se nourrir. Par contre, ces contraintes ne s'appliquent pas lors d'une exposition en laboratoire où les conditions sont contrôlées et les escargots nourris durant toute la phase d'exposition.

Seuls les transferts des sols superficiels sont étudiés pour une exposition *in situ* : les premiers centimètres pour la voie cutanée et les premiers décimètres pour l'ingestion des plantes. L'étude des transferts depuis des sols présents en

profondeur, excavés et valorisés en surface se fait à partir d'une exposition en laboratoire.

#### À quelle étape ?

Ces deux indices sont essentiellement utilisés lors du **diagnostic approfondi**. Ils renseignent sur l'impact de la pollution sur le milieu en déterminant les transferts de polluant qui ont lieu entre le sol, les plantes et les escargots.

Il est également possible avec ces indices d'évaluer les risques environnementaux associés à un phytomanagement.

Ils peuvent également être proposés pour assurer un **contrôle résiduel**. Dans ce cas, ces indices peuvent être utilisés pour mettre en évidence la réduction des transferts de la pollution vers le vivant et pour vérifier la compatibilité d'une pollution résiduelle après une opération de traitement *in situ* ou sur site.

# LA BIODISPONIBILITÉ ENVIRONNEMENTALE

## POLLUANTS CONCERNÉS

L'interprétation des concentrations mesurées dans les viscères est possible pour les polluants métalliques pour lesquelles une TGV (Threshold Guide Value) a été déterminée

sur des sols non pollués d'usages très différents comme des sols de prairie, de culture ou de forêt. Actuellement, ces valeurs sont disponibles pour 16 éléments métalliques.

| Polluant                   | As    | Cd   | Co    | Cr    | Cu    | Hg    | Mn   | Mo    | Ni    | Pb   | Sb    | Se   | Sn    | Sr    | Tl    | Zn   |
|----------------------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| TGV in situ (mg/kg)        | 0.307 | 2.27 | 6.676 | 2.01  | 184.7 | 0.198 | /    | 4.428 | 5.249 | 12.9 | 0.076 | /    | 0.058 | 125.7 | 0.259 | 1490 |
| TGV en laboratoire (mg/kg) | 0.364 | 5.6  | 8.12  | 0.653 | 173   | 0.089 | 1355 | 2.31  | 6.1   | 9.06 | 0.36  | 1.25 | 0.048 | 71    | /     | 581  |

*TGV de métaux et métalloïdes chez l'escargot C. aspersus exposé in situ ou en laboratoire à des sols non pollués.*

Il est possible d'étendre l'utilisation de la méthode à d'autres substances mais cela nécessite de déterminer les TGV correspondantes en amont. Les TGV de polluants

organiques (HAP et PCB) sont en cours de finalisation dans le cadre du projet de recherche COMBINE de l'Ademe.

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Le matériel nécessaire pour l'échantillonnage est classique.

Pour une exposition *in situ*, il est nécessaire de s'équiper de boîtes de stockage en bois et de microcosmes (cylindres en acier inoxydable de 25 cm de diamètre et 25 cm de hauteur fermés par une grille de maille 0,5 ou 1 cm et maintenue par 3 à 4 tiges en inox). Pour une exposition en laboratoire, des boîtes en plastiques suffisent.

Du matériel de laboratoire simple est à prévoir pour la réalisation du test : balance, boîtes plastiques pour le jeûne,

élastiques, étuve pour séchage puis minéralisation des échantillons, tubes 50 ml et acide pour minéralisation des tissus ou solvants pour extractions des polluants organiques.

Le matériel pour l'analyse des concentrations dépend de la nature de polluants :

- une ICP-MS (ou une ICP-AES) pour des polluants métalliques,
- une CG-ECD ou une HPLCMS/MS pour des polluants organiques.

*ICP-MS: spectrométrie de masse à couplage inductif, ICP-AES: spectrométrie d'émission atomique à couplage inductif, CG-ECD: chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons, HPLCMS/MS: chromatographie liquide haute performance associée à un tandem de spectrométrie de masse.*

## MÉTHODOLOGIE

Les investigations actives sont réalisées suivant deux phases distinctes : l'exposition sur le terrain ou en laboratoire pendant 28 jours puis l'analyse et l'interprétation des résultats.

La notion de bioindication active correspond à l'apport d'individus d'élevage et donc naïfs de toute contamination en opposition à la bioindication passive qui consiste à prélever des individus sur le terrain. L'utilisation des indices SET et ERITME n'est possible qu'avec la bioindication active car les TGV ont été calculées à partir d'une durée d'exposition précise.

Avant l'exposition des escargots, il convient de choisir le lieu de l'expérience. Le protocole *in situ* permet de répondre à une étude des transferts *in situ* intégrant l'ensemble des paramètres environnementaux tandis que le protocole en laboratoire permet de caractériser les transferts du sol seul.

### Exposition

Avant l'exposition des escargots, une analyse des concentrations en polluants dans six escargots est réalisée. Les valeurs sont comparées aux valeurs de référence TGV si elles existent pour vérifier que les escargots ne présentent pas de teneurs initiales anormales en polluants.

La **méthode de bio-indication active *in situ*** consiste à placer les escargots dans des microcosmes qui sont placés sur les zones d'étude pendant 28 jours. Le nombre

de microcosmes (1 à 3) est adapté à chaque site selon la surface, l'homogénéité de la pollution et les usages actuels et futurs. Il n'y a pas besoin de placer un microcosme témoin. Dans chaque microcosme, on place 15 escargots petits gris subadultes (5-6 g) issus de l'élevage ou d'éleveurs locaux. Entre la fin de leur élevage et la pose sur le terrain, ils peuvent être stockés au sec dans des boîtes en bois. Quelques heures avant d'être placés sur site, ils sont humidifiés pour les remettre en activité. Dans les microcosmes, ils sont exposés aux conditions naturelles d'exposition via le sol et les végétaux ayant poussé sur le site et à l'air ambiant. Les expositions ont lieu entre avril et novembre pour éviter les périodes de gel.

La **méthode de bioindication active en laboratoire** consiste à exposer les escargots au sol du site d'étude placé dans des boîtes plastiques. Le sol frais (300 g) est déposé sur le fond de la boîte et humidifié à 50 % de sa capacité au champ. Six escargots petits gris subadultes (5-6 g) issus de l'élevage ou issus d'éleveurs locaux sont exposés dans la boîte. L'exposition se fait en triplicat. Les escargots sont nourris 3 fois par semaine et les fèces sont retirées. Les expositions en laboratoire sont réalisables toute l'année.

Si une analyse de la cinétique d'absorption est envisagée, les escargots sont prélevés à différents temps d'exposition (2, 5, 7, 14, 21 et 28 jours d'exposition).



Exposition en microcosmes in situ (gauche et centre) et en laboratoire (droite).

### Analyse

Après exposition, les escargots prélevés sont pesés, puis sont mis à jeûner durant 48 heures. Pendant le jeûne, les fèces sont ôtées toutes les 24 heures.

Les escargots sont ensuite congelés à -80 °C. Après décongélation, le corps mou est retiré de la coquille, les viscères et le pied sont séparés puis séchés à l'étuve à 60 °C jusqu'à masse constante. Pour les analyses de polluants organiques, les tissus sont lyophilisés. Au total, 6 escargots sont nécessaires, les autres étant prévus pour tenir compte d'une éventuelle mortalité ou pour des mesures complémentaires.

### Calcul des indices

Les résultats d'analyse permettent de calculer les quotients d'accumulation (QA) pour obtenir les indices SET et ERITME. Un quotient d'accumulation supérieur à 1 caractérise un excès de transfert par rapport à un sol non pollué pour le polluant considéré.

$$QA = \frac{\text{Concentration médiane en contaminant après 28 jours d'exposition}}{\text{TGV du contaminant}}$$

L'indice SET met en évidence les excès de transfert du sol aux escargots pour tous les polluants métalliques dans la matrice étudiée.

$$SET = \sum_{\text{polluant}} (QA - 1)$$

L'indice ERITME permet de mesurer le risque lié au transfert des polluants.

$$ERITME = \sum (QA - 1) \times TP$$

avec TP la valeur toxicologique de l'ATSRD de 2019

### Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats de l'indice ERITME se fait à l'aide des bornes issues de programme de recherche.

| État des transferts | Absence de risque | Zone d'incertitude sur le risque | Risque avéré |
|---------------------|-------------------|----------------------------------|--------------|
| Indice ERITME       | 0 à 2574          | 2574 à 22720                     | > 22720      |



## AVANTAGES – INCONVÉNIENTS – MATURITÉ DE LA TECHNIQUE

### AVANTAGES

#### Échantillonnage

- Réalisable par du personnel débutant,
- Mise en place rapide,
- Filière d'élevage d'escargots existante,
- Peu d'effets environnementaux par rapport aux méthodes de prélèvements conventionnelles,
- Technique non destructive et non intrusive.

#### Résultats d'interprétation

- Intégration de tous les facteurs modulant la biodisponibilité des polluants métalliques du sol pour les escargots,
- Caractérisation des risques environnementaux,
- Indicateur intégrant l'ensemble des paramètres environnementaux,
- Utilisation possible dans la méthodologie TRIADE,
- Apporte des informations relatives à l'exposition de consommateurs de niveaux supérieurs (exposition directe et exposition via l'alimentation),
- Différentes informations obtenues selon le protocole *in situ* ou en laboratoire.

### INCONVÉNIENTS

#### Échantillonnage

- Phase d'exposition de 28 jours.

#### Polluants

- TGV disponibles uniquement pour les polluants métalliques,
- Mesure l'accumulation des polluants non dégradés uniquement.

### MATURITÉ DE LA TECHNIQUE



R&D aboutie, indicateurs développés, technique utilisée sur le terrain

## DÉLAIS DE MISE EN ŒUVRE

La phase d'investigation est la partie la plus longue car il est nécessaire de respecter un temps d'exposition de 28 jours et 2 jours de jeûne. Une à deux semaines sont ensuite nécessaires

pour la phase d'analyse des polluants en laboratoire et pour l'interprétation des résultats avec la rédaction du rapport.

### PHASE

### INVESTIGATIONS

### ANALYSE ET TRAITEMENT

Délai associé



⌚ : jour / ⌚⌚ : semaine / ⌚⌚⌚ : mois

## ÉLÉMENTS DE COÛTS

Les coûts d'investigations sur le terrain ou en laboratoire sont faibles car le temps d'exposition ne demande pas de maintenance particulière et le matériel est assez bon marché. Les coûts liés à la technique sont essentiellement justifiés par la préparation des échantillons, les analyses chimiques et le temps ingénieur passé sur l'analyse des données et la rédaction du rapport. Le coût total pour l'étude d'une zone

est compris entre 800 € et 1 200 €. Ce prix peut être adapté selon le nombre de zones étudiées. Ce prix intègre le temps du personnel pour la pose et la récupération des escargots, la préparation des échantillons, l'analyse et l'interprétation des résultats. Le surcoût d'une étude cinétique correspond au nombre d'analyses supplémentaires.

### PHASE

### INVESTIGATIONS

### ANALYSE ET TRAITEMENT

Coût associé



€ < 100 € / €€ < 1 000 € / €€€ > 1 000 €

## POUR EN SAVOIR PLUS - RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] A. de Vauffleury, B. Pauget & coll., UMR 6249 Chrono-environnement, Besançon – Fiche outil: Indice SET - Mai 2017

[2] Rapport ADEME – Les bioindicateurs de l'état des sols – Mai 2017

[3] Annette de Vauffleury & coll., Fiche Les escargots bio-indicateurs de la qualité des sols

[4] Norme ISO/DIS 24032. Qualité des sols — Encagement in situ d'escargots pour la mesure de la bioaccumulation de contaminants

[5] Projet ADEME - Combine à venir