

# LA BIODISPONIBILITÉ ENVIRONNEMENTALE

## L'INDICE SET, BIOINDICATEUR D'ACCUMULATION

### DESCRIPTION DU PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

La mesure des teneurs totales classiquement réalisée dans le domaine des sites et sols pollués permet de quantifier un danger potentiel lié à une pollution mais n'est pas forcément représentatif du risque pour les écosystèmes car elle intègre une partie de la pollution présente dans le sol non accessible aux organismes. Pour améliorer l'évaluation du risque, la mesure des teneurs totales peut être complétée par l'estimation de la **fraction biodisponible** (fraction du polluant susceptible d'être assimilée par un organisme et donc d'engendrer des effets délétères, voir fiche sur les outils d'évaluation des risques environnementaux).

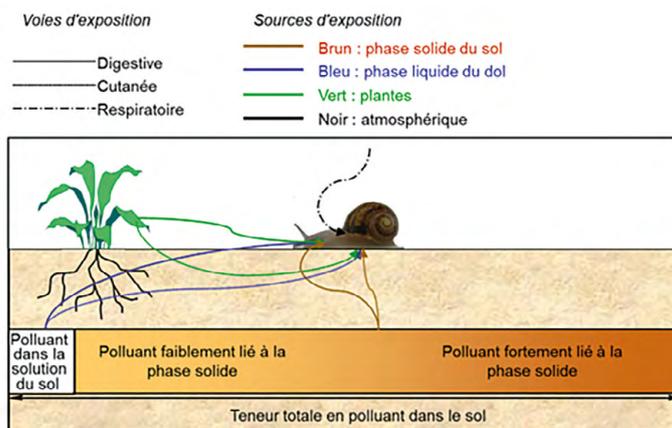
La fraction biodisponible et bioaccumulée peut être mesurée directement sur un organisme vivant et exposé à la pollution, l'organisme est alors considéré comme un bioindicateur d'accumulation. À l'image de l'indice PhytoAc sur les végétaux, **l'indice SET (Somme des Excès de Transferts)** est une technique biologique qui permet d'estimer la biodisponibilité

des polluants à l'aide d'un modèle animal, l'escargot.

La méthode est basée sur l'exposition des escargots sur site ou au laboratoire. A l'issue de l'exposition, une analyse permet de quantifier les polluants bioaccumulés dans les viscères des animaux. L'indice SET renseigne sur les excès de transfert des polluants dans les escargots par rapport à des valeurs de références correspondant aux teneurs dans les viscères habituellement rencontrées dans des escargots exposés sur sol non pollué et permet ainsi d'établir un classement du site selon un référentiel spécifique.

**L'indice SET** caractérise la biodisponibilité environnementale c'est-à-dire qu'il met en évidence les excès de transfert de polluants métalliques du sol vers les escargots pour un sol pollué par rapport à un sol non pollué. Ainsi l'indice SET est un indicateur de la biodisponibilité environnementale.

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



© d'après Pauget, 2011

### CONTEXTE D'UTILISATION

**L'indice SET est utilisable sur la plupart des sites. Il apporte une image réelle et ponctuelle de la mobilité et des transferts des polluants dans l'environnement pour mieux estimer les risques potentiels associés. Cette analyse vient en complément des analyses chimiques classiques qui permettent uniquement de caractériser la pollution.**

Lors de la réalisation d'une exposition sur site, 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 une couverture végétale, pour permettre 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 sur site : les premiers centimètres pour la voie cutanée et l'ingestion de sol et indirectement les premiers décimètres via l'ingestion des plantes. Cette restriction de profondeur ne s'applique plus lors des expositions en laboratoire (les sols de tous les horizons peuvent être étudiés).

#### À quelle étape ?

Ce bioindicateur d'accumulation est essentiellement utilisé lors du **diagnostic approfondi**. Il renseigne sur les transferts de polluants qui ont lieu entre le sol, les plantes et les escargots et permet de mieux cerner les zones où les transferts et la bioaccumulation sont les plus importants.

Au moment **du plan de conception des travaux (PCT)** ou à l'issue de la réhabilitation, il permet de **conforter le choix de la technique de dépollution ou du mode de gestion du site** en mettant en évidence la réduction des transferts de polluant vers les escargots. Il peut également être utilisé en suivi de gestion lors d'opérations de phytomanagement.

L'indice SET-escargot peut enfin être utilisé dans le cadre d'un plan de **surveillance du site** réhabilité afin de s'assurer d'une gestion durable du site et d'une stabilité dans le temps du comportement des polluants dans le sol et de leur biodisponibilité.

# LA BIODISPONIBILITÉ ENVIRONNEMENTALE

## POLLUANTS CONCERNÉS

L'interprétation des concentrations mesurées dans les viscères est possible pour les éléments métalliques pour lesquels 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. Bien que le retour d'expérience soit plus important pour les polluants inorganiques, il existe

également des valeurs de référence (TGV) en laboratoire pour les 16 HAP et 7 PCB les plus courants.

Il est possible d'étendre l'utilisation de la méthode à d'autres substances qui ne disposent pas de TGV mais cela nécessite une adaptation de l'interprétation [4].

POLLUANT	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Mo	Ni	Pb	Sb	Se	Sn	Sr	Tl	Zn
TGV <i>in situ</i> (mg/kg MS)	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 MS)	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 sur site ou en laboratoire à des sols non pollués.*

POLLUANT	Naphtalène	Acénaphthylène	Acénaphthène	Fluorène	Phénanthrène	Anthracène	Fluoranthène	Pyrène	Benzo(a)anthracène	Chrysène	Benzo(b)fluoranthène	Benzo(k)fluoranthène	benzo(a)pyrène	dibenzo(a,h)anthracène	benzo(ghi)perylène	indéno[1,2,3-cd]pyrène	PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 138	PCB 153	PCB 180
TGV en laboratoire (mg/kg MS)	26.1	16.9	13.7	6.45	4.20	9.63	1.92	1.83	1.44	1.47	2.28	2.01	6.45	4.08	5.31	5.25	0.12	0.18	0.18	0.24	0.51	0.36	0.23

*TGV des 16 HAP et 7 PCB chez l'escargot C. aspersus exposé en laboratoire à des sols non pollués.*

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Le matériel nécessaire pour l'échantillonnage est classique. Pour une exposition sur site, 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, [4]). Pour une exposition en laboratoire, des boîtes en plastiques suffisent. Dans les deux cas, des escargots subadultes de 5 g environ sont utilisés.

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 HPLC MS/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, HPLC MS/MS : chromatographie liquide haute performance associée à un tandem de spectrométrie de masse.*

## MÉTHODOLOGIE

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

L'utilisation de l'indice SET n'est possible qu'avec la bioindication active car les TGV ont été calculées pour une durée d'exposition précise. La **bioindication active** correspond à l'apport d'individus d'élevage et donc naïfs de toute pollution, à la différence de la bioindication passive qui consiste à prélever des individus sur le terrain.

Avant l'exposition des escargots, il convient de choisir l'objectif de l'étude. Le protocole sur site 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, une analyse des concentrations en polluants dans six escargots est réalisée. Les valeurs sont comparées aux valeurs de référence TGV si elles existent [4] pour vérifier que les escargots ne présentent pas de teneurs initiales anormales en polluants.

**La méthode de bioindication active sur site** consiste



à exposer 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 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. Deux centimètres de sol du site humidifié à 50% de sa capacité au champ sont déposés sur le fond de la boîte. 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).



© Laboratoire Chrono Environnement

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

### Analyse

Après exposition, les escargots prélevés sont pesés, puis sont mis à jeuner 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 analysés frais. Au total, 6 escargots sont nécessaires, les autres étant prévus pour tenir compte d'une éventuelle mortalité ou pour des mesures complémentaires.

### Calcul de l'indice et interprétation des résultats

Les résultats d'analyse permettent de calculer les quotients d'accumulation (QA) pour obtenir l'indice SET. 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 les éléments traces métalliques, l'indice SET est calculé comme suit :

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

### Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats de l'indice SET permet une analyse relative entre les zones du site et ainsi cerner les zones où le transfert et la bioaccumulation sont les plus importants.

L'interprétation pour les éléments traces métalliques se fait à l'aide des bornes issues de programme de recherche.

Il n'existe pas à l'heure actuelle des bornes similaires pour les composés organiques. Cependant, en l'absence de bornes, et en considérant le fait que les composés organiques sont essentiellement d'origine anthropique, on peut considérer un SET >1 comme une anomalie.

ETAT DES TRANSFERTS	ABSENCE DE RISQUE	ZONE D'INCERTITUDE SUR LE RISQUE	RISQUE AVÉRÉ
<b>Indice SET</b>	<b>0 à 7</b>	<b>7 à 58</b>	<b>&gt; 58</b>

Interprétation de l'indice SET pour les éléments traces métalliques.

## 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 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 sur site ou en laboratoire.

### INCONVÉNIENTS

#### Échantillonnage

- Phase d'exposition de 28 jours,
- Utilisation d'organismes vivants,

#### Polluants

- Mesure l'accumulation des polluants non dégradés uniquement.

### MATURITÉ DE LA TECHNIQUE



R&D aboutie, indicateurs développés, technique très peu 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 2 500 € selon le nombre de zones étudiées. 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.

### PHASE

### INVESTIGATIONS

### ANALYSE ET TRAITEMENT

Coût associé



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

## POUR EN SAVOIR PLUS - RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] A. de Vaulleury, 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 Vaulleury & coll., Fiche Les escargots bio-indicateurs de la qualité des sols

[4] Norme NF EN ISO 24032 - Qualité des sols — Engagement in situ d'escargots pour la mesure de la bioaccumulation de contaminants – Décembre 2021

[5] Projet ADEME - COMBINE : Coupler des indicateurs chimiques et biologiques pour une évaluation intégrative des risques sanitaires et environnementaux - à venir

[6] M. Louzon et coll., Ex situ environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus* – Sciences of the total environment, 721 - Mars 2020