

BIBLIOMÉTRIE SUR L'UTILISATION DE BIOTESTS NORMÉS DANS LES ÉTUDES DE SITES ET SOLS POLLUÉS

JF. LASCOURREGES, R. PEIFFER, APESA - Fondation Innovasol

O. ATTEIA, ENSEGID - Fondation Innovasol

avec la contribution de JL CRABOS, Prism Environnement - Fondation Innovasol

et JF MASFARAUD, UMR CNRS 7360 LIEC Université de Lorraine

Dans la gestion des sites et sols pollués, l'analyse chimique est un prérequis indispensable presque toujours réglementaire. Cependant, à elle seule, l'approche "substance" (analyses physicochimiques et comparaison avec les banques de données toxicologiques) ne suffit pas à évaluer le risque généré par la concentration d'un contaminant (souvent d'un mélange de contaminants) dans un sol donné. L'utilisation d'outils biologiques testant directement le sol (approche

intégrée dans des démarches d'évaluation des risques environnementaux (TRIAD⁽¹⁾, DSS⁽²⁾) et on pourrait imaginer à l'avenir avoir des prescriptions pour une caractérisation écotoxicologique d'échantillons de sols comme il est demandé aujourd'hui une caractérisation physicochimique. Les professionnels, face à l'offre disponible, peuvent alors se demander quels sont les outils réellement pertinents et ceux ayant fait l'objet d'un grand nombre d'expérimentations.

Une bibliométrie de la littérature scientifique a permis d'évaluer le niveau d'utilisation d'un certain nombre de biotests recouvrant les principaux groupes biologiques du sol : bactéries, végétaux et invertébrés. Les publications ont été recherchées à partir des moteurs Internet des trois principaux éditeurs scientifiques : Elsevier (science direct), Wiley et Springer. Afin de pouvoir étudier en détail un nombre raisonnable de publications, et de s'assurer qu'il ne s'agissait pas de simples citations du biotest mais de son utilisation effective, cinq normes ISO ont été entrées comme mots clés : ISO 11269-1, ISO 11269-2, ISO 11348, ISO 11268-1, ISO 17512-1. Ont été sélectionnées les publications comprises entre 1999 et mars 2014. En effet, les biotests

peu utilisés dans les années 90, se sont beaucoup développés à partir des années 2000. D'autre part, les premières versions de ces normes ISO datent de 1998. Ainsi, 144 publications ont été étudiées et les informations reportées dans une base de données structurée en 32 champs (norme, critère mesuré, espèce, contamination, type de site, type de sol...) et 2.232 lignes portant les différentes valeurs que pouvaient prendre chaque champ. Une recherche croisée à partir des publications les plus récentes nous a permis de nous assurer de l'exhaustivité de notre démarche.

Biotests et critères les plus utilisés

Le nombre de travaux ayant utilisé au moins un des biotests concernés par les 5 normes susmentionnées est reporté sur la Figure 1. Les deux biotests normés les plus utilisés depuis 1999 sont la biomasse végétale et le test bactérien d'inhibition de la luminescence (dont le plus répandu est Microtox®). Vient ensuite la mesure de la mortalité sur ver de terre. Concernant les essais sur végétaux, la germination apparaît fréquemment du fait de sa mesure préalable à celle de la biomasse dans le cadre de la norme ISO 11269-2 (sa prise



"matrice sol") peut mettre en évidence les effets induits sur les organismes par le sol dans son entier. A l'origine, ces biotests n'étaient pas destinés à évaluer des sols pollués mais des substances susceptibles de se retrouver dans les sols. Leur utilisation a été petit à petit

en compte est cependant 40% moindre que la biomasse). La longueur de tige est le critère le moins utilisé. Il s'agit d'un critère non obligatoire à la norme 11269-1 donc potentiellement moins mesuré. L'autre critère très peu pris en compte est la mesure de la biomasse du ver de terre qui est réalisée sur les survivants après décompte de la mortalité. Pour les sols moins contaminés, le test d'évitement considéré comme sensible et rapide (introduction à la norme 17512-1) est préféré.

Dans certains des travaux, des biotests complémentaires correspondant à d'autres critères et/ou normes ont été associés aux normes déjà citées :

Utilisation des biotests selon le contaminant

Comme illustré sur la Figure 2, les biotests bactériens type Microtox[®] ont été utilisés majoritairement sur métaux et hydrocarbures ou sur des mélanges de ces contaminants. Contrairement aux deux autres groupes d'organismes (ver de terre et végétaux), ce type de biotest bactérien est peu appliqué à l'étude de l'écotoxicité des biocides (insecticides, fongicides, herbicides). Pour les biotests sur ver de terre, un plus grand nombre de travaux ont été réalisés sur sols contaminés par des biocides. Les biotests de mortalité et d'évitement ont tous les deux

travaux ayant mis en œuvre les biotests correspondant aux 5 normes étudiées ont été réalisés sur sols artificiellement contaminés. Cela peut être mis en relation avec l'origine de ces biotests conçus au départ pour l'évaluation de la toxicité de substances, et non de sols. Si l'on se limite aux essais mis en œuvre pour évaluer des sols réels prélevés sur sites (Figure 2 à droite), on constate que les plus fréquemment appliqués sont :

- L'inhibition de luminescence bactérienne pour des contaminations par métaux (par hydrocarbures ou mélanges dans une moindre mesure)
- La biomasse végétale et longueur racinaire pour des pollutions métalliques
- La mortalité du ver de terre pour des contaminations par métaux ou hydrocarbures
- L'évitement du ver de terre pour des contaminations par métaux ou biocides

Concernant les biocides et quelques autres molécules moins étudiées (acides organiques, produits pharmaceutiques...), les études ont été réalisées dans moins de 36% des cas (et souvent jamais) sur sols réels.

Utilisation des biotests en batterie

Les biotests végétaux pouvant avoir un grand nombre d'espèces cibles, il a été évalué combien d'espèces étaient utilisées simultanément pour leur réalisation. La biomasse végétale est mesurée pour moitié des cas sur 2 espèces, conformément à la norme qui préconise l'utilisation d'une espèce monocotylédone (céréales) et d'une espèce dicotylédone (légumineuses, crucifères...). Un quart des travaux sont cependant réalisés avec une seule espèce et quelques études comparent l'effet sur 3 ou 4 espèces. Pour le critère racine, presque toutes les études sont réalisées sur une seule espèce, alors que la tige est mesurée majoritairement sur 2 espèces → →

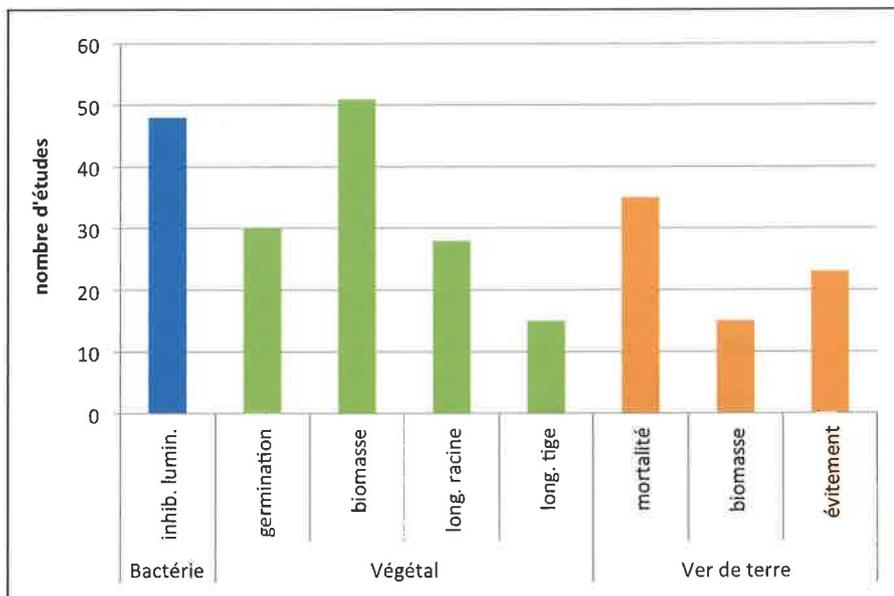


Figure 1 : Nombre d'études ayant utilisé au moins un des biotests

reproduction du ver de terre (20), test daphnie (17), test sur microalgues (11), test de génotoxicité (7). Les tests sur daphnies et microalgues restent moyennement ou peu utilisés, visant spécifiquement la caractérisation de la fraction toxique mobile et transférable aux masses d'eau. La génotoxicité, souvent appréciée par le test d'Ames sur Salmonelle, est très peu étudiée, seulement déterminée pour les sites où une contamination par des Cancérogène, Mutagène, Reprotoxique (CMR) est suspectée.

été appliqués sur sols contaminés par des métaux ou biocides alors que seulement le premier a été mis en œuvre pour évaluer des pollutions par hydrocarbures. Concernant les biotests sur végétaux, il y a une utilisation prépondérante des critères biomasse (quel que soit le contaminant) et longueur de racine (pour les contaminations métalliques). On notera que dans le cas des biocides, le critère racine n'est pas du tout utilisé. D'autre part, si l'on considère la nature de la matrice, plus de la moitié (52%) des

→ → (soit pour pallier à une plus grande variabilité, soit par association avec la mesure de biomasse). On notera pour le critère "racines" que 5 études distinctes ont concerné simultanément de 3 à 6 espèces végétales. Bien que le choix des végétaux testés soit large, il est limité à la vingtaine d'espèces, recommandées par la norme, toutes d'intérêt agronomique, et pas de plantes sauvages. La pratique met en évidence quelques espèces préférentielles. Globalement, le blé est l'espèce cible la plus régulièrement employée. La navette

(famille des choux) est très utilisée pour les mesures sur biomasse et tige. On trouve également parmi les plus fréquentes, l'avoine, la laitue, la tomate, le cresson. D'autre part, la plus grande variété d'espèces est testée sur le critère biomasse (21) devant le critère racine (16) et le critère tige (11), ce qui reflète la fréquence d'utilisation des biotests.

S'il est reconnu à travers certains travaux et dans les conclusions de nombreuses conférences qu'une meilleure évaluation du risque écotoxicologique passe par l'utilisation

simultanée de biotests en batterie, force est de constater que 80% des études n'ont porté que sur un seul biotest (dont 16% avec la mesure de 2 critères). Moins de 19% des travaux ont concerné l'application simultanée de 2 ou 3 normes différentes. Seules 2 publications rapportent des expérimentations sur 4 critères et les 3 groupes d'organismes comme la batterie de biotests en cours d'évaluation par InnovaSol (biomasse et racine sur végétal + biomasse du ver de terre + microtox).

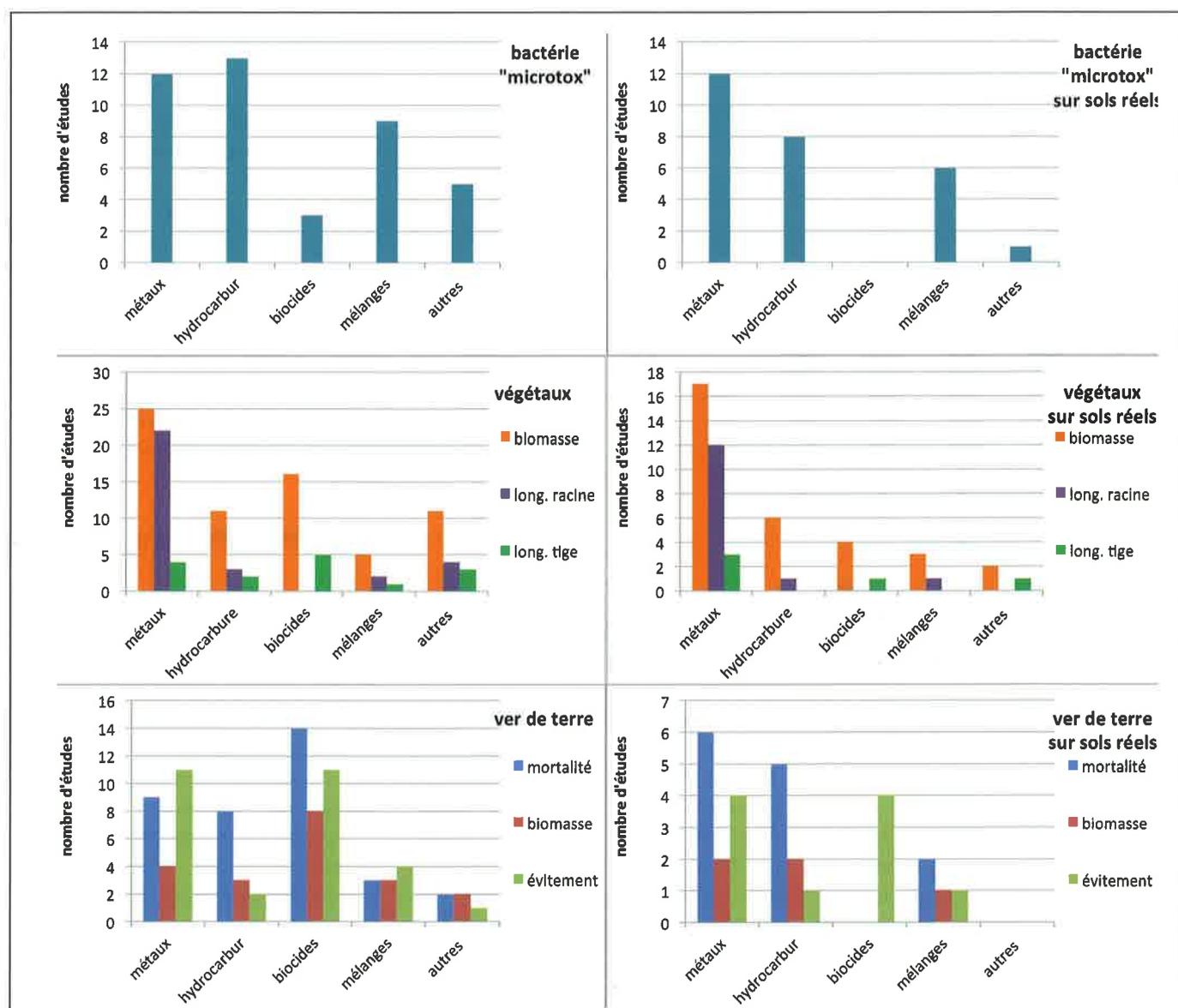


Figure 2 : Utilisation des différents critères et biotests en fonction du type de contaminant. A gauche : sur sols artificiellement contaminés et sols réels ; à droite : sur sols réels prélevés sur site. Le terme mélanges désigne le plus souvent une contamination mixte métaux+hydrocarbures

Origine et type d'études

Si l'on s'intéresse aux équipes ayant mis en œuvre ces biotests et l'objectif de leur étude, 75% des travaux proviennent d'Europe, notamment d'Allemagne mais aussi du Portugal, de France et de Finlande. Au niveau mondial, la Chine a réalisé un bon nombre d'études s'appuyant sur ces normes ISO, mais essentiellement pour l'évaluation de la toxicité de substance dans les sols. Pour le continent américain, le Brésil apparaît comme le principal contributeur à ce type de travaux. Curieusement, les USA et le Canada apparaissent quasi-absents de la littérature étudiée. A cela deux raisons : leur utilisation de normes et guides propres à l'USEPA⁽³⁾ et à Environnement Canada et l'antériorité des travaux menés sur la standardisation de tels biotests. Concernant leur(s) objectif(s) (Figure 3), les études ont été regroupées selon qu'elles avaient été menées en laboratoire ou dans le but de caractériser de façon plus ou moins étendue l'écotoxicité d'un site. L'objectif principal de l'étude (parfois 2) a été recherché : évaluation de la toxicité d'une substance ou d'un produit d'épandage (amendements, effluents de traitement, sédiments...), évaluation de la réponse d'un biotest, rôle des caractéristiques des sols, suivi d'un procédé de (bio)remédiation. La majorité (85%) des publications correspond à des travaux en laboratoire dont la moitié concerne des évaluations de substances et un quart des études des développements ou des essais de biotests. Environ 15% des publications concernent l'évaluation écotoxicologique d'un site essentiellement lors du suivi d'opérations de restauration (à l'échelle du site ou à l'échelle de pilote) et dans le cadre de démarches d'évaluation de risques environnementaux. Dans la mise en œuvre de ces biotests, nous avons pu déterminer qu'un quart avait été réalisé selon la norme concernée et que dans 52% des cas la méthodologie n'était qu'inspirée de la norme avec plus ou moins d'adéquation. Le reste des travaux ne donnait pas d'indications permettant de conclure au respect ou non de la norme.

Exploitation des données d'écotoxicité des "matrices" étudiées

Toutes les publications ont été regroupées en fonction de l'exploitation qui a été faite des résultats des essais d'écotoxicité. Le tableau 1 montre que pour plus de la moitié des publications, une comparaison de l'écotoxicité → →

OFFRES D'EMPLOI



Responsable Service Assainissement Non Collectif H/F

Fonctionnaire titulaire / contractuel, Rhône-Alpes,
L'Arbresle

Contexte : Communauté de Communes • Nord Ouest de Lyon • 17 communes • 3 000 installations.

Mission : Animation du SPANC : orientations en matière de contrôle • mise en œuvre des ANC • conseils aux élus • évaluation de la politique publique • évolution du service. Gestion du SPANC : budget • redevance • subventions • tableau de bord • actes administratifs • encadrement d'un technicien • relations partenaires, usagers et communes • référent technique • veille juridique. Contrôles et suivi : conformité ANC • travaux • plannings • base de données ANC • autorisations d'urbanisme. Opérations de réhabilitation ANC : mise en œuvre, soutien technique, suivi, financement. Dossier Rivière & Inondation.

Profil : bac+2 mini en eau et assainissement • 3 à 5 ans d'exp. similaire + connaissance des collectivités • permis B.

Candidature : delphine.rosalie@paysdelarbresle.fr.

CARRIÈRE ASCENSIONNELLE !



Des offres



EMPLOI
ENVIRONNEMENT.com

→ → de plusieurs échantillons est réalisée, aboutissant à une classification relative selon leur écotoxicité. Pour un quart des études, l'écotoxicité est appréciée par rapport à une référence interne ou externe permettant de qualifier le degré de toxicité des échantillons : très, moyennement, peu ou pas toxique. Pour 7% des cas, une comparaison de l'écotoxicité avant et après un traitement de sols contaminés était privilégiée. Enfin, pour quelques travaux l'objectif ne concernait pas directement l'appréciation de l'écotoxicité d'un substrat mais par exemple le développement d'une méthodologie. Sur les 144 publications, seulement 2 avaient rapporté des études menées en parallèle sur sols réels et sols artificiellement contaminés pour une même contamination (pétrole dans un cas, sel dans l'autre cas). Cependant la comparaison est restée essentiellement qualitative montrant un effet similaire des contaminants sur les organismes.

Conclusion et recommandations

Cette bibliométrie a mis en évidence que même si la moitié des études étaient réalisées sur sols artificiellement contaminés, l'utilisation des biotests répondait parfaitement à leur objectif d'évaluer l'écotoxicité relative ou absolue des sols prélevés sur le terrain. Une étude sur 7 correspond à une démarche d'estimation à l'échelle d'un site contaminé mais les retours d'expérience sont peu diffusés et il reste à encourager les équipes à publier ce genre de travaux dans les revues scientifiques. Plusieurs questions relatives à l'application de ces normes méritent d'être discutées : Quel système de décision conduit à appliquer ou non une norme ? Lorsque la norme n'est pas suivie, est-ce que cela entraîne des biais dans les résultats ? Est-ce que l'ajustement des normes favoriserait leur utilisation pour

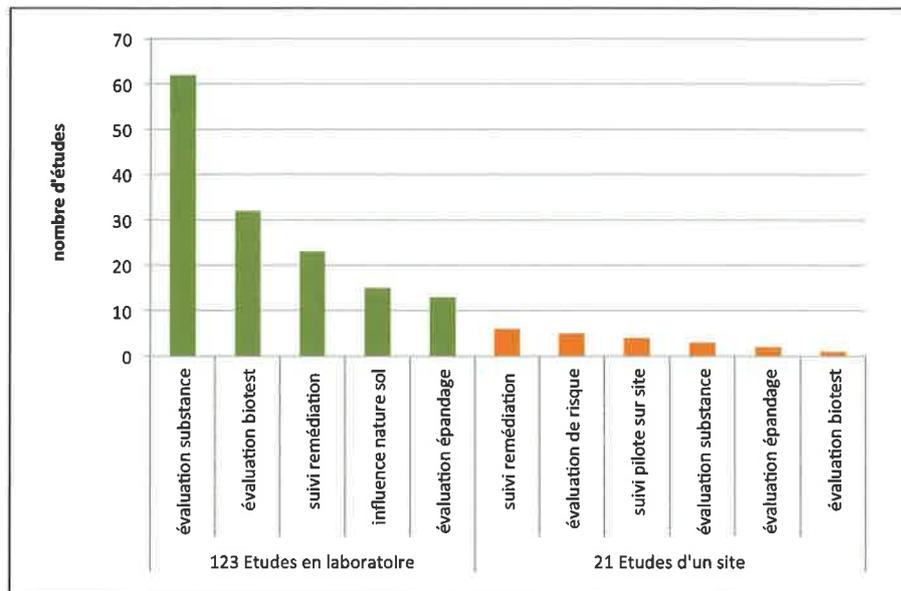


Figure 3 : Nombre d'études en fonction de l'objectif recherché

Toxicité relative des échantillons	55%
Toxicité "absolue" des échantillons	23%
Toxicité avant/après traitement	7%
Non concerné /non indiqué	14%

Tableau 1 : Interprétations des résultats fournis par les biotests sur l'écotoxicité des sols/substances étudiés

l'évaluation de sites ? Quels sont les ajustements nécessaires pour améliorer la pertinence des outils existants en vue de leur application aux sites et sols pollués (SSP) ? Les questions récurrentes portent sur l'influence des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité et l'écotoxicité des polluants, sur les effets combinés de mélanges, et le choix des matrices choisies comme références. Concernant les contaminations étudiées, l'utilisation de biotests a concerné le plus fréquemment les métaux et les hydrocarbures, ce qui reflète dans une certaine mesure les préoccupations des 20 dernières années.

On peut supposer qu'il en sera encore longtemps ainsi, même si l'évolution des activités conduira à évaluer l'écotoxicité de

contaminations nouvelles (nanomatériaux, dérivés pharmaceutiques...) ou non répertoriées (multiples, proches du bruit de fond anthropique). Le critère le plus souvent mesuré dans l'application des biotests est la biomasse végétale, devant l'inhibition de la luminescence bactérienne et la mortalité du ver de terre. Cependant, l'utilisation de ces biotests en batterie reste très peu fréquente malgré l'intérêt reconnu. Il serait intéressant de développer les approches permettant d'établir un indice d'écotoxicité de sols basé sur la réponse de plusieurs organismes. ●

Notes :

⁽¹⁾ TRIAD : approche par niveaux d'investigation intégrant les caractérisations chimiques, écotoxicologiques et écologiques

⁽²⁾ DSS : outil d'aide à la décision pour l'évaluation du risque écologique pour un site

⁽³⁾ USEPA : United States - Environmental Protection Agency