

## Quantification couplée des transferts de polluants et de l'induction d'effets écotoxiques pour diminuer les incertitudes dans les évaluations quantitatives des risques environnementaux des sites et sols contaminés

### Introduction

Les évaluations quantitatives des risques environnementaux (EQRE) des sites et sols pollués sont utilisées pour mettre en place des mesures de prévention ou de restauration des socio-écosystèmes contaminés comme la renaturation ou la spatialisation puis le dimensionnement des volumes de terre à traiter sur site en fonction des risques vis-à-vis des écosystèmes terrestres (Song et al., 2019; Louzon et al., 2022). Considérant l'application du concept One Health (Destoumieux-Garzon et al., 2018) aux processus de réhabilitation des sites contaminés, les EQRE peuvent par ailleurs être couplées à des évaluations quantitatives des risques sanitaires (EQRS) pour que les décisions de gestion combinent la prise en compte des enjeux sanitaires et environnementaux (Louzon et al., 2021a). L'identification, le calcul et le management des incertitudes sont des aspects importants à traiter dans une évaluation du risque afin de renforcer les conclusions de l'expertise en présentant et calculant également ses limites (Mesa-Frias et al., 2013; Nielsen et al., 2023; INERIS 2021). Ce processus est bien appréhendé actuellement dans les EQRS (Cox, 2012; Roudot, 2012; de Giudici 2014; INERIS 2021) et dans les EQRE sites-spécifiques selon la méthodologie de référence TRIADE (ISO 19204:2017). Les outils écotoxicologiques utilisés en EQRE sont très nombreux et variés au regard des différents usages environnementaux à évaluer, contextes de pollution, mécanismes écotoxicologiques sous-jacents, et de la diversité des écosystèmes. Cette diversité permet si les outils sont suffisamment accessibles à la communauté la mise en production de solutions de diagnostic et de réhabilitation sur mesure (tout en restant dépendante d'enjeux budgétaires et temporels). La procédure d'évaluation des risques TRIADE (ISO 19204:2017) conclut qualitativement quant aux niveaux de risques écotoxicologiques (acceptables ou non) si les conclusions quantitatives entre les approches chimiques, toxicologiques et écologiques sont suffisamment identiques et permettent une décision de gestion éclairée. Cela est évalué au travers du calcul des incertitudes avec des seuils qui font encore débat au regard du manque de connaissances sur le niveau d'incertitudes maximales tolérables dans une étude écotoxicologique pour garantir une préservation de l'environnement acceptable. La méthode TRIADE est fondée sur le concept du poids de la preuve (WoE, weight of evidence) et chaque outil va enrichir une approche (*i.e.* chimique, toxicologique ou écologique) nommée LoE (line of evidence).

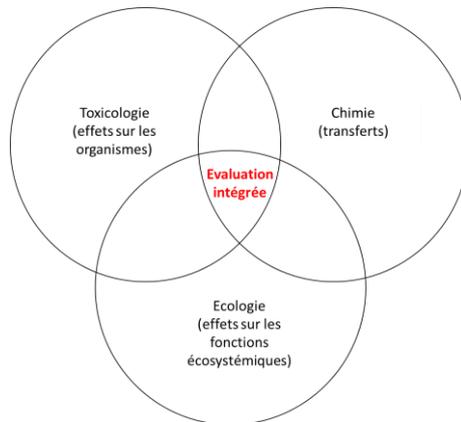


Figure 1 : Concept de l'approche TRIADE.

Actuellement, la réalisation de l'approche TRIADE se heurte à différentes difficultés liées à la sélection des outils et conduit à la génération d'incertitudes inacceptables nécessitant d'augmenter les investigations TRIADE. En effet, il existe trois niveaux permettant d'augmenter la complexité des outils à utiliser afin de limiter les incertitudes et de conclure quant aux niveaux de risques. Ces incertitudes peuvent par exemple être liées au fait qu'une extraction  $\text{CaCl}_2$  est utilisée en LoE chimique contre un test d'évitement de vers de terre en LoE écotoxicologique. Bien que ces essais présentent des intérêts écotoxicologiques, leurs conclusions ne sont pas directement liées du point de vue des mécanismes écotoxicologiques en jeu, ce qui peut causer des incertitudes quantitatives importantes et empêcher de conclure sur les niveaux de risques. De plus, souvent des indicateurs chimiques à partir des concentrations totales sont calculés et cela conduit à augmenter les incertitudes sur les risques car la biodisponibilité environnementale des composés est peu évaluée alors que des études ont montré que ce ne sont pas les sols les plus contaminés qui sont nécessairement les plus à risques (Louzon et al., 2020). En outre, pour les mêmes raisons, considérant le concept de la biodisponibilité et sa déclinaison à la biodisponibilité toxicologique évaluée à travers l'évaluation d'effets écotoxicologiques, les liens entre les concentrations totales ou extractibles sont difficiles à mettre en évidence selon le principe du WoE et à corrélérer aux résultats des bioessais normalisés ISO (vers de terre, escargots, collemboles, enchytréidés, nématodes, végétaux, champignons endomycorhiziens), du fait de l'indépendance des outils.

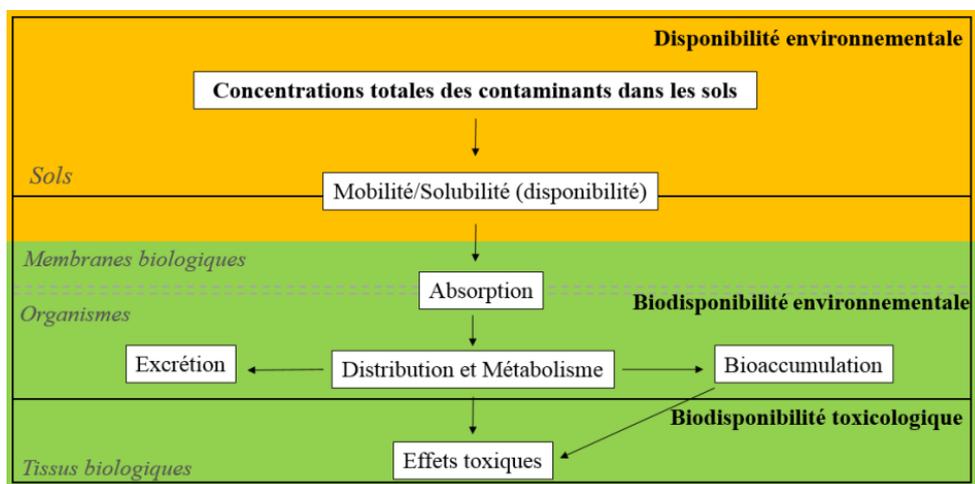


Figure 2 : Le concept de la biodisponibilité (Louzon, 2020).

Ces incertitudes peuvent parfois dépasser les seuils communément utilisés comme le 0,4 qui est pratiqué dans le cadre d'une approche TRIADE (Pucheux et al., 2017). Une meilleure prise en compte du concept de la biodisponibilité environnementale (LoE chimique) et toxicologique (LoE toxicologique) dans les EQRE avec des outils validés permet de mieux maîtriser ces incertitudes.

#### **Line of Evidence Chimique (LoE Chimique) - Evaluation de la biodisponibilité environnementale**

La biodisponibilité environnementale des contaminants peut s'évaluer *in situ* et *ex situ* par la mesure des transferts de contaminants vers des organismes modèles en écotoxicologie comme l'escargot pour l'interface air-plante-sol (Louzon et al., 2022), le vers de terre pour les premiers horizons du sol (Coelho et al., 2018 ; Coelho, 2019) ou au sein de communautés végétales (Le Guédard et al., 2017). Si les contaminants ne sont pas bioaccumulables, les cinétiques d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'excrétion peuvent être évaluées à travers l'utilisation par exemple de modèles toxicocinétiques et toxicodynamiques (TK/TD) tandis que si les contaminants sont bioaccumulables des approches de calculs d'indices validés peuvent être employées, notamment GSET qui correspond au ratio entre les concentrations internes mesurées sur des organismes exposés soit sur le terrain ou en laboratoire et les concentrations guides de références pour des organismes non exposés à des sols contaminés (Louzon et al., 2020). L'indice GSET (et GERITOXE pour le risque écotoxicologique consécutif aux transferts) est validé pour les métaux et métalloïdes, les HAP, les PCB (ISO 24032:2020; Louzon et al., 2022) et son applicabilité aux terres rares, dioxines (PCDD), furanes (PCDF) et aux polybromés (PBDE) a également été montré (Coelho, 2019; Louzon, 2020). Il a été montré que cet indice développé avec le bioindicateur d'accumulation *Cantareus aspersus*, l'escargot Petit Gris, était transposable à d'autres espèces modèles en écotoxicologie telles que le vers de terre (Coelho et al., 2018; Coelho, 2019) et une autre espèce d'escargot modèle utilisée en biosurveillance dans les écosystèmes méditerranéens, *Cantareus apertus* (Mleiki et al., 2020). Pour les végétaux, selon une approche similaire mais limitée pour les valeurs de références aux métaux et métalloïdes, il existe l'indice CMT/Phytomet (Le Guédard et al., 2017). En l'absence de valeurs de références pour certaines espèces ou polluants, des valeurs de références spécifiques peuvent être calculées sur la base de témoins laboratoires ou de la station de référence du site. Il en va de même pour les approches cinétiques. D'autres organismes peuvent également être utilisés en fonction des contextes écotoxicologiques sur la base d'approches GSET ou TD/TK pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale des contaminants.

Tableau 1 : Indicateurs biologiques pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale de sites et sols pollués.

Outils de la LoE chimique	Application <i>in situ</i>	Application <i>ex situ</i>	Valeurs de références disponibles	Seuils d'interprétation de l'indice
GSET escargot (interface air-plante-sol)	Encagement (norme ISO 24032)	Exposition en faunarium	métaux, métalloïdes, HAP, PCB	Louzon et al., 2021b : <7 : acceptable 7-58 : incertitudes > 58 : transferts élevés
GSET vers de terre (horizons superficiels du sol)	Communautés lombriciennes	Exposition en faunarium	Non	en l'absence d'une étude spécifique reliant les transferts à l'induction d'effet, les seuils de l'indice GSET escargot peuvent être utilisés à titre indicatif pour le GSET vers de terre
CMT végétaux/Indice Phytomet	Communautés végétales	Exposition en pot (ou rhizotest)	Métaux et métalloïdes	Le Guédard et al., 2017 : < 5 : acceptable 5-15 : transferts faibles à modérés >15 : transferts élevés

### Line of Evidence Toxicologique (LoE Toxicologie) – Evaluation de l'induction d'effets écotoxiques avec des biomarqueurs en écotoxicologie terrestre

La mesure de biomarqueurs sur les organismes exposés pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale permet de lier les excès de transferts de contaminants à l'altération de l'état de santé et de la fitness Darwinienne des individus. Cela a par exemple été montré à la fois pour des biomarqueurs de traits d'histoire de vie (Louzon et al., 2021b), de génotoxicité (Louzon et al., 2021c) et métaboliques comme l'indice oméga 3 (Le Guédard et al., 2017). Les différents biomarqueurs d'effets classiquement utilisés en routine en écotoxicologie terrestre sont ceux de stabilité génomique (comet assay, comet assay modifié (fpg), micronoyaux, RAPD-HRS), de stress oxydant (MDA, activités anti-oxydantes), de viabilité des fonctions reproductives (maturité sexuelle, histopathologie reproductrice), de fonctionnement cellulaire et immunitaire (stabilité lysosomale, capacité phagocytaire, intégrité membranaire) de neurotoxicité (inhibition de l'activité AchE), de croissance (taille, masse) et liés au métabolisme (indices lipidiques) (Le Guédard et al., 2017 ; Louzon, 2020; Mleiki et al., 2020; Louzon et al., 2021b; Louzon et al., 2021c). La sélection des biomarqueurs utilisés est dépendante des mécanismes d'actions écotoxicologiques connus des substances présente dans les sols à investiguer. Ces biomarqueurs peuvent s'intégrer dans le calcul d'un indice multi-biomarqueur (IBR) opérable avec la procédure TRIADE. Les résultats de l'indice IBR peuvent être confrontés avec ceux des indices GSET et CMT/Phytomet.

### Intégration de la biodisponibilité dans les EQRE et liens avec la LoE écologique

Les outils d'évaluation de la biodisponibilité environnementale et de mesure de biomarqueurs fournissent des résultats inter-opérables avec la méthode de calculs de risques intégrés TRIADE. Avec une meilleure prise en compte du concept de biodisponibilité dans les EQRE notamment dans le cadre de l'application de la procédure site-spécifique TRIADE, il est donc possible de renforcer les liens de cause à effet (transferts de polluants évalués dans la LoE chimique et induction consécutive

d'effets altérants la fitness Darwinienne des individus dans la LoE toxicologique) et donc l'expertise du risque en diminuant les incertitudes car les mesures de transferts et d'effets sont effectuées sur les mêmes individus et dans les mêmes contextes d'exposition. Des ponts peuvent également être effectués avec la LoE écologique lorsque les concentrations internes ou les biomarqueurs sont par exemple mesurés dans les communautés d'invertébrés ou de végétaux sur site et qui sont étudiées en tant que bioindicateurs écologiques (comme par exemple selon les normes ISO qualité du sol pour les communautés lombriciennes, de nématodes, de microarthropodes et d'enchytréidés).

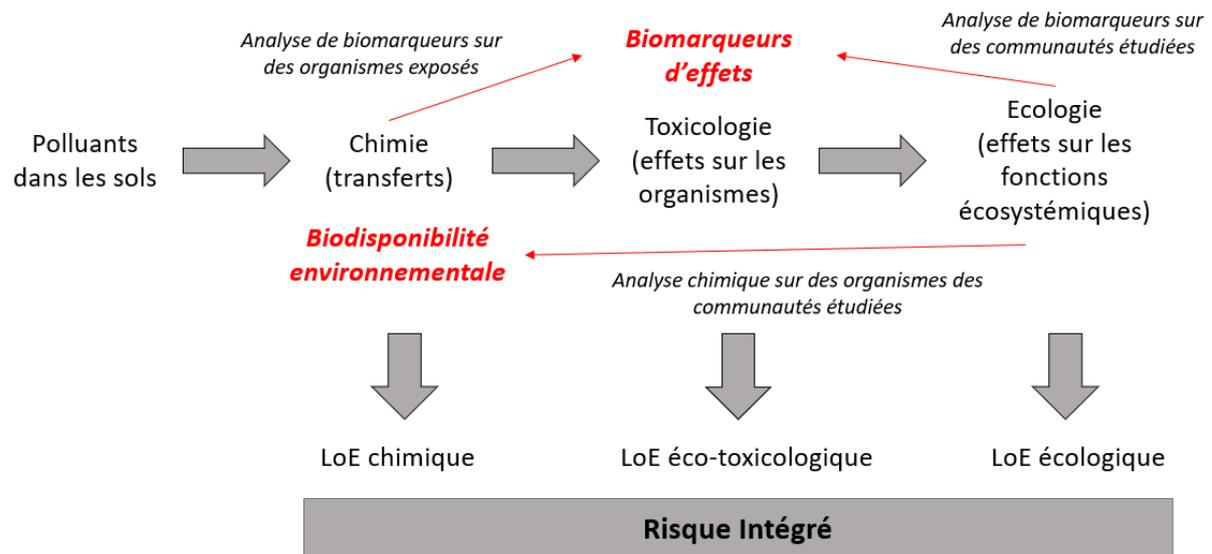


Figure 3 : Couplage de l'évaluation des transferts et de biomarqueurs pour le calcul de risques intégrés en diminuant les incertitudes.

Les approches présentées dans cette fiche thématique ne se substituent pas aux méthodes actuelles d'applications de la norme TRIADE utilisant dans la plupart des cas les concentrations totales en polluants dans les sols et extractibles ainsi que des bioessais ISO qualité du sol aiguë et chroniques, mais se veulent être des ressources pour diminuer les incertitudes dans les EQRE par l'évaluation de la biodisponibilité.

Contact

Dr. Maxime Louzon  
Responsable du Pôle Ecosystèmes – ENVISOL



### Bibliographie citée

- Coelho, C., Foret, C., Bazin, C., Leduc, L., Hammada, M., Inacio, M., Bedell, J.P., 2018. Bioavailability and bioaccumulation of heavy metals of several soils and sediments (from industrialized urban areas) for *Eisenia fetida*. *Science of The Total Environment* 635, 1317-1330.
- Coelho, C., 2019. Transfert et effets des retardateurs de flammes bromés (RFBs) sur trois espèces végétales et une espèce de lombric dans des anthrosols. Thèse de doctorat de l'Université de Lyon, pp. 265.
- Cox, L.A., 2012. Confronting Deep Uncertainties in Risk Analysis. *Risk Analysis* 32, 1607-1629.
- De Giudici, P., 2014. Evaluation quantitative des risques sanitaires de sites et sols pollués – Analyse des sources de variations et d'incertitudes dans l'estimation des expositions : caractérisation, étude comparative et voies d'amélioration. RECORD, ETUDE N° 12-0675/1A, pp. 151.
- Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, D., Fritsch, C., Giraudoux, P., Roux, F.L., Morand, S., et al., 2018. The One Health concept: 10 years old and a long road ahead. *Frontiers in Veterinary Science* 5, 14.
- INERIS, 2021. Évaluation de l'état des milieux et des risques sanitaires. INERIS, Guide, pp. 129.
- ISO 19204, 2017. Qualité du sol — Procédure d'évaluation des risques écologiques spécifiques au site de la contamination des sols (approche TRIADE de la qualité du sol). International Organization for Standardization.
- ISO 24032, 2020. Qualité des sols — Engagement in situ d'escargots pour la mesure de la bioaccumulation de contaminants. International Organization for Standardization.
- Le Guédard, M., Villenave, C., Faure, O., Nau, J.F., Pauget, B., Péres, G., 2017. APPOLINE : Applicabilité à l'étude des sites pollués du biomarqueur lipidique des végétaux et du bio-indicateur nématofaune, pp. 187.
- Louzon, M., 2020. Développement d'indicateurs chimiques et biologiques pour l'évaluation des risques environnementaux des sites et sols contaminés. Thèse de doctorat de l'Université de Bourgogne-Franche Comté, pp. 358.
- Louzon M., Pauget B., Gimbert F., Morin-Crini N., de Vaufléury, A., 2020. Ex situ environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus*. *Science of the Total Environment* 721, 137789.
- Louzon, M., Pauget, B., Pelfrène, A., Gimbert, F., de Vaufléury, A., 2021a. Combining human and snail indicators for an integrative risk assessment of contaminated soils by metal(loid)s. *Journal of Hazardous Materials* 409, 124182.
- Louzon, M., Devalloir, Q., Gimbert, F., Pauget, B., Rieffel, D., de Vaufléury, A. 2021b. From bioavailability to risk assessment of polluted soils using snails: Link between excess transfer and inhibition of sexual maturation. *Environmental Science and Pollution Research* 28, 17343-17354.
- Louzon, M., Gimbert, F., Belly, T., Amiot, C., Pauget, B., de Vaufléury, A., Capelli, N., 2021c. From environmental bioavailability of metal(loid)s to their ecogenotoxicological effects in land snails. *Environmental Science and Pollution Research* 28, 43629-43642.
- Louzon, M., Pauget, B., Gimbert, F., Morin-Crini, N., Wong, J., Zaldibar, B., Natal-da-Luz, T., et al., 2022 In situ and ex situ bioassays with *Cantareus aspersus* for environmental risk assessment of metal(loid) and PAH-contaminated soils. *Integrated Environmental Assessment and Management* 18, 539-554.
- Mesa-Frias, M., Chalabi, Z., Vanni, T., et al., 2013 Uncertainty in environmental health impact assessment: quantitative methods and perspectives. *International Journal of Environmental Health Research* 23, 16-30.
- Mleiki, A., El Menif, N.J., Marigómez, I., 2020. Integrative assessment of the biological responses elicited by metal pollution in the green garden snail, *Cantareus apertus*. Laboratory and field studies. *Ecological Indicators* 117, 106589.
- Nielsen, G.H., Heiger-Bernays, W.J., Levy, J.I., et al., 2023. Application of probabilistic methods to address variability and uncertainty in estimating risks for non-cancer health effects. *Environmental Health* 21 (Suppl 1), 129.
- Pucheux, N., Roux, L., Andres, S., Pandard, P., Thybaud, E., 2017. Rapport final – Retour d'expérience par étude de cas sur un ancien site minier (méthode TRIADE pour l'évaluation du risque pour les écosystèmes). Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie, pp. 52.
- Roudot, A.C., 2012. Modélisation des incertitudes et variabilité en EQRS. ANSES, Bulletin de veille scientifique Santé Environnement Travail 19, 44-46.
- Song, Y., Kirkwood, N., Maksimovic, C., Zheng, X., O'Connor, D., Jin, Y., Hou, D., 2019. Nature based solutions for contaminated land remediation and brownfield redevelopment in cities: A review. *Science of the Total Environment* 663, 568-579.