

D'après le bon de commande
n° CS-DTD- 1704 du 26 octobre 2017



BIO-TOX

Toxicologie – Ecotoxicologie,
Sécurité Produits et Environnement

Rapport de Synthèse






Rapport de synthèse
n°2017-SME-42923-synth

Caractérisation de l'impact
écotoxicologique des activités de
l'installation de stockage de déchets
non dangereux (ISDND) de
Berbiac (09)

Surveillance 2017



18, impasse de la fauvette, 33400 Talence
Tel : +33 557 990 169
Sarl au capital de 20 560 €
Siret : 444 722 797 000 32 – APE : 7490B

 BIO-TOX Technologie - Développement Sécurité Produits et Environnement	REDACTION	VERIFICATION ET APPROBATION
Nom	Julie TABERLY	Philippe SOLER
Qualité	Chargée de Missions Ecotoxicologie	Co-gérant
Date	22/12/2017	03/01/2018
Visa		

Sommaire

1	Introduction.....	2
2	Objet	3
3	Dates de réalisation des différentes étapes de l'étude	3
4	Localisation des points de prélèvements	3
5	Rappel des essais et résultats précédents.....	4
6	Composés analysés	6
7	Quelques valeurs de référence dans les sols	7
7.1	Dioxines et furanes	7
7.2	Métaux	7
7.3	Hydrocarbures Totaux (C10-C40).....	8
7.4	HAP	8
7.5	PCB DL.....	9
8	Méthodologie -Biomarqueurs d'exposition	10
8.1	Origine des animaux	10
8.2	Préparation des sols et exposition des animaux	10
8.3	Dosage des biomarqueurs.....	11
8.4	Expression des résultats	12
8.5	Traitement statistique des données	13
8.6	Echelle multiple (N3BT scale)	13
9	Mesure des biomarqueurs d'exposition	14
9.1	Toxicité aigue	14
9.2	Variation des biomarqueurs.....	14
9.3	Comparaison avec les années précédentes	17
9.4	Conclusion sur le dosage des biomarqueurs d'exposition.....	18
10	Résultats des dosages chimiques	19
10.1	Dioxines et furanes	19
10.2	Métaux lourds.....	20
10.3	Hydrocarbures C10-C40	23
10.4	Autres composés	23
11	Conclusion générale	23
ANNEXE 1 : Compte-rendu de la campagne de prélèvements autour de l'ISDND de Berbiac		
ANNEXE 2 : Fiche d'analyse des biomarqueurs d'exposition chez le ver <i>Eisenia fetida</i> exposé à des sols prélevés autour de l'ISDND de Berbiac		
ANNEXE 3: Résultats de l'analyse statistique des biomarqueurs d'exposition		

1 Introduction

Le SMECTOM du Plantaurel exploite depuis 1998 l'ISDND de Berbiac sur la commune de Manses (09).

Le site est implanté à 1 km au sud-est du village de Manses. Les casiers sont localisés dans le vallon secondaire du bois des Crotes.

Cette installation répond aux exigences réglementaires en vigueur.

Dans le cadre des accords signés avec le Pays de Mirepoix, au terme de 10 années d'exploitation, le SMECTOM du Plantaurel s'est engagé à mettre en place un suivi environnemental extraréglementaire du site et de ses abords immédiats. L'objectif est d'identifier l'impact de l'installation sur les milieux en présence (air, sols, sédiments, eaux) et indirectement sur les organismes vivants dans ces milieux.

Bio-Tox a mis en œuvre l'ensemble des études de surveillance réalisées jusqu'à présent.

La première étape a consisté en la réalisation d'un état des lieux de la qualité de l'air, des sols et des eaux autour du site. Cette étape a été réalisée en 2009 et 2010 au moyen de biosurveillance de l'air (lichens), et d'essais écotoxicologiques normalisés de toxicité aiguë puis chronique.

Les milieux pris en compte étaient les eaux de surface et les sols, ceux-ci étant récepteurs des pollutions ayant transité par le compartiment atmosphérique, et par le compartiment aquatique. Dans le cas des sols nous avons choisi d'évaluer les risques liés au contact ou à l'ingestion de ces matrices ainsi que les risques de transfert vers les compartiments aqueux par lixiviation.

Au terme de cet état des lieux, et en l'absence de toxicité chronique sur les milieux étudiés, nous avons proposé au SMECTOM un programme de surveillance pertinent et séquencé dans le temps (l'intégralité des essais ne doit pas être nécessairement réalisée tous les ans) pour les années 2011 à 2017.

En 2013, des analyses chimiques complètes ont été réalisées sur les sols afin de compléter ponctuellement les informations apportées par les essais écotoxicologiques.

En 2014 ont été réalisés l'essai Comet sur les sols, l'essai algue sur les lixiviats des sédiments et une étude de biosurveillance lichenique pour déterminer la qualité de l'air.

En 2015, la mesure de biomarqueurs d'exposition sur les sols (essais écotoxicologiques sur vers de terre) et l'essai algue sur deux sédiments ont été réalisés.

En 2016, un test d'évitement des vers de terre les 6 sols ainsi que l'essai algue sur quatre sédiments ont été réalisés.

En 2017 un nouveau programme septennal a été décidé. Celui-ci est détaillé dans le Tableau 1.

Suivant le programme décidé, en 2017, une nouvelle campagne d'analyses chimiques complètes dans les sols ainsi que la mesure de biomarqueurs d'exposition ont été réalisées.

PROGRAMME D'ESSAIS DE 2017 A 2023	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
lichens							
étude de flore				X			
chimie sur 4 points		X					X
sols							
essai algue sur lixiviat			X		X	X	
biomarqueurs chez le ver	X			X			X
évitement chez le ver			X			X	
test comet chez le ver		X			X		
chimie	X						
sédiments du Millas et du Bessous							
essai sur chironome (sédiment brut)			X				
lixiviation des sédiments			X		X	X	
essai algue sur lixiviat			X		X	X	

Tableau 1: Programme septennal de la surveillance environnementale de 2017 à 2023

2 Objet

Synthèse des résultats de la surveillance environnementale 2017 réalisée au moyen d'analyses chimiques et d'essais écotoxicologiques (biomarqueurs d'exposition) sur des échantillons de sols prélevés sur et autour de l'installation de stockage de déchets non dangereux (ISDND) de Berbiac (09) en juillet 2017.

3 Dates de réalisation des différentes étapes de l'étude

Prélèvement des échantillons de sols.....	07/07/2017
Réception des résultats d'analyse chimique	du 24/07/2017 au 08/08/2017
Préparation des sols (séchage, tamisage)	du 08/07/2017 au 21/08/2017
Exposition des vers	du 22/08/2017 au 05/09/2017
Préparation de la fraction post mitochondriale (S9).....	05/09/2017
Dosage des biomarqueurs	du 12/09/2017 au 20/09/2017
Traitement statistique et interprétation des résultats.....	du 21/09/2017 au 05/10/2017
Rédaction du rapport biomarqueurs	du 21/09/2017 au 05/10/2017
Analyse des résultats et rédaction du rapport de synthèse	du 20 au 03/01/2018

4 Localisation des points de prélèvements

La stratégie d'échantillonnage a été initialement élaborée en accord avec Mme la Maire de Manses et M le directeur du Smectom et d'après les plans et prévisions concernant le devenir du site. Ce plan d'échantillonnage initial a été réaménagé afin de tenir compte de la nouvelle configuration du site après l'ouverture de « Manses2 ».



Figure 1 : Localisation des prélèvements en 2017.

La localisation des prélèvements a été modifiée en 2016 en raison de l'ouverture d'une seconde zone d'exploitation appelée « Manses 2 ». Deux points ont été rajoutés (S7 et S8) et deux points abandonnés (S3 et S4). En 2017, le point S6 a été supprimé du suivi et le point S9 a été rajouté.

Les points de prélèvements sont localisés sur la Figure 1.

Le compte rendu de la campagne de prélèvement 2017 est présenté en ANNEXE1.

5 Rappel des essais et résultats précédents

Le Tableau 2 présente les différents essais réalisés sur les échantillons de sols, d'air et de sédiments prélevés sur et autour du site de Berbiac de 2009 à 2016 ainsi que les résultats obtenus.

Au bilan, les résultats des analyses chimiques et des essais écotoxicologiques de toxicité aiguë et chronique réalisés de 2009 à 2016 sur des prélèvements de sols, de sédiments, et d'air (retombées atmosphériques) autour du site, ne témoignent pas d'un impact notable de l'installation.

Les essais réalisés sur le milieu terrestre n'ont pas permis de mettre en évidence de toxicité aiguë ou chronique pour la fraction solide ni pour la fraction lixiviable à l'exception du sol S1 (en 2013 et 2016).

Il n'y a donc pas de risque associé au transfert des composés des sols vers le milieu aquatique.

En 2014 ; un effet génotoxique faible, proche du seuil de significativité, a été observé pour le sol S1 (point éloigné, considéré comme un témoin). Les vers de terre exposés aux autres sols ne présentaient pas de génotoxicité.

Milieu	Fraction	Toxicité	Organisme	Paramètre mesuré	Résultats
AIR	Gazeuse et particulaire	-	<i>Lichens</i>	Indice Global de la Qualité de l'Air	Qualité de l'air impactée vers l'accès au site, et 1 point situé sur le site actuel présente une dégradation plus importante
				Echelle de Lallemand (diagnostic ammoniacal et d'odeurs aminées)	Aucune incidence n'est relevée autour du site (un seul relevé révèle une faible incidence, situé sur le site)
				Dosages de PCDD/Fs, HAP et métaux lourds	Teneurs faibles
SOLS	Solide	Aiguë	<i>Eisenia fetida/andrei</i>	Toxicité aiguë	Pas de toxicité aiguë
		Chronique		Test d'évitement	Comportement d'évitement des vers vis-à-vis du sol S1 (à 100%) en 2013 et 2016
				Inhibition de la reproduction	Pas de toxicité chronique
				Mesure de biomarqueurs	Pas de toxicité chronique
				Test de génotoxicité	Pas de toxicité chronique (faible effet observé au point S1 en 2014)
	Dosages de PCDD/Fs, HAP et métaux lourds, PCB, COV, phtalate, pesticide, hydrocarbure C10-C40			Teneurs faibles (un peu plus élevées en S1 pour Hg (point hors influence) et de S5 pour Cu)	
	Lixiviat	Aiguë	<i>Daphnia magna</i>	Inhibition de la mobilité	Pas de toxicité aiguë
		Aiguë	<i>Vibrio fischeri</i>	Inhibition de la luminescence	Pas de toxicité aiguë
		Chronique	<i>Algues</i>	Croissance	Pas de toxicité chronique
		Aiguë	<i>Daphnia magna</i>	Inhibition de la mobilité	Pas de toxicité aiguë
Aiguë		<i>Vibrio fischeri</i>	Inhibition de la luminescence	Pas de toxicité aiguë	
Lixiviat		Chronique	<i>Algues</i>	Croissance	Pas de toxicité chronique (légère inhibition de la croissance dans les sédiments du Bessous en 2014)
		Sédiment brut	Chronique	<i>Chironomus riparius</i>	Inhibition de la croissance

Tableau 2 : Résultats des essais et analyses autour du site de Berbiac de 2009 à 2016.

Les essais réalisés sur le milieu aquatique (sédiments) en amont et aval du rejet du site dans le Millas, et en amont et aval du rejet du Millas dans le cours d'eau Le Bessous, montrent l'absence de toxicité aiguë et chronique des sédiments (fraction brute ou lixiviable) chez les organismes testés.

Les essais algues réalisés en 2014 sur les lixiviats de sédiments du ruisseau des Bessous ont mis en évidence une légère inhibition de la croissance, mais pas dans le ruisseau du Millas où se rejettent les eaux du site, ce qui montre que celui-ci n'est pas en cause.

Il n'y a donc pas d'impact sur la qualité de ce drain et du cours d'eau du fait des rejets du centre de stockage.

6 Composés analysés

Les composés chimiques suivants ont été analysés :

- Dioxines et furanes (PCDD/F)
- Métaux : arsenic (As), cadmium (Cd), chrome (Cr), cuivre (Cu), Fer (Fe), mercure (Hg), manganèse (Mn), magnésium (Mg), nickel (Ni), plomb (Pb) et zinc (Zn).
- PCB indicateurs,
- HAP,
- COV,
- Phtalates,
- Pesticides organochlorés,
- Hydrocarbures C10-C40

Les 17 congénères de dioxines et furanes (PCDD/F) analysés sont détaillés dans le Tableau 3.

Congénère	TEF OTAN ₁₉₈₉	TEF OMS ₁₉₉₇	TEF OMS ₂₀₀₅
2,3,7,8 Tetrachlorodibenzodioxine	1	1	1
1,2,3,7,8 Pentachlorodibenzodioxine	0.5	1	1
1,2,3,4,7,8 Hexachlorodibenzodioxine	0.1	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8 Hexachlorodibenzodioxine	0.1	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9 Hexachlorodibenzodioxine	0.1	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8 Heptachlorodibenzodioxine	0.1	0.01	0.01
Octachlorodibenzodioxine	0.001	0.0001	0.0003
2,3,7,8 Tetrachlorodibenzofurane	0.1	0.1	0.1
1,2,3,7,8 Pentachlorodibenzofurane	0.05	0.05	0.03
2,3,4,7,8 Pentachlorodibenzofurane	0.5	0.5	0.3
1,2,3,4,7,8 Hexachlorodibenzofurane	0.1	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8 Hexachlorodibenzofurane	0.1	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8 Hexachlorodibenzofurane	0.1	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9 Hexachlorodibenzofurane	0.1	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8 Heptachlorodibenzofurane	0.01	0.01	0.01
1,2,3,4, 7,8,9 Heptachlorodibenzofurane	0.01	0.01	0.01
Octachlorodibenzofurane	0.001	0.0001	0.0003

Tableau 3: Liste des congénères de PCDD/F et facteurs de toxicité (TEF) associés.

Les résultats sont exprimés avec LQ (dans les rapports CARSO : « nd = lod ») ou sans LQ (dans les rapports CARSO : « nd = 0 »). Lorsque les résultats sont exprimés avec LQ, si un congénère

n'est pas détecté, la valeur retenue pour le calcul en TEQ n'est pas zéro mais le seuil de quantification (résultat majorant).

7 Quelques valeurs de référence dans les sols

7.1 Dioxines et furanes

L'AFSSA indique qu'un sol dont la contamination serait supérieure à 40 pg I-TEQ / g de matière sèche serait impropre à l'élevage de bovin compte tenu du risque de contamination de la chaîne alimentaire. Ce seuil est issu de valeurs de concentrations en dioxines et furanes, fixant l'utilisation des sols en Allemagne (pg I-TEQ/g de matière sèche MS

Tableau 4).

Utilisation	Niveau
Valeur cible	5
La culture de produits alimentaires n'est pas limitée. Cependant, la mise en culture de plantes sensibles au transfert des dioxines (pâturage...) devra être évitée si des niveaux croissants de dioxines sont détectés dans les produits issus de ces sols.	5 à 40
Restriction des cultures à des produits à faible capacité de transfert des dioxines (maïs...)	> 40

pg I-TEQ/g de matière sèche MS

Tableau 4: Valeurs guide allemandes d'utilisation des sols

Les concentrations en dioxines et furanes dans les sols français ont été mises à jour en 2013 (BRGM, 3ème état des lieux). Les sols ont été regroupés en 4 classes selon leur concentration :

Classes de sols	PCDD/F
Sols ruraux et quelques sols urbains	2
Sols urbains et sols sous influence industrielle	2-8
Sols sous influence industrielle	8-17
Sols atypiques	> 17

ng TEQ OMS98/kg MS, sans LQ

Tableau 5 : Concentrations en PCDD/F dans les sols français

7.2 Métaux

Les anciennes valeurs guides pour les métaux lourds du BRGM (2002) ne sont plus d'usage.

Les teneurs en métaux dans les sols dépendent du fond pédogéochimique, lui-même lié à la concentration en métaux originels du sous-sol sur lequel se développe le sol. Ainsi, le fond pédogéochimique d'un sol naturel non contaminé peut varier d'environ un à trois pour un même métal à l'échelle du territoire français compte tenu de la grande diversité géologique de notre pays.

Des études historiques et documentaires (des bases de données sont proposées par le BRGM) ainsi que des mesures locales doivent définir l'état des milieux.

Nous avons cité pour indication la fourchette de valeur des métaux dans les sols français « ordinaires » (hors anomalies) provenant du programme ASPITET portant sur l'acquisition et l'interprétation des teneurs en éléments traces (ETM) et les concentrations autour du site

reportées dans l'Atlas Géochimique d'Europe (<http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/>) y sont également précisées (minima et maxima).

Le manganèse (Mn) est un élément minéral majeur des sols, il n'existe pas de valeur limite, les valeurs moyennes des sols français sont comprises entre 270 et 9 200 mg/kg MS.

Le fer est présent dans les sols français à une concentration moyenne de 35 000 mg/kg MS.

Aucune valeur n'est disponible pour le magnésium.

mg.kg MS	As	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Cd	Hg
ASPITET	1-25	10-90	2-20	2-60	9-50	10-100	0.05-0.45	0.02-0.10
Atlas géochimique d'Europe (autour du site)	12-14	32-40	19-23	23-30	10-18	57-63	0.25-0.29	0.03-0.04

Tableau 6: Fourchettes de concentrations en métaux dans des sols français.

7.3 Hydrocarbures Totaux (C10-C40)

En l'absence de base de données établie concernant l'indice HCT dans les sols, certaines valeurs peuvent néanmoins être utilisées :

- les valeurs guides néerlandaises (1994) pour les HCT : la valeur cible* est de 50 mg/kg, et la valeur d'intervention** de 5 000 mg/kg.
- en France l'arrêté du 12/12/2014¹ peut être utilisé à titre indicatif : la valeur de référence pour les HCT est de 500 mg/kg Ms.
- le seuil pour la réutilisation des terres traitées est : < 2 000 mg/kg MS (FNADE, Burgeap, 2006)

*valeur cible : la valeur cible correspond à un standard de qualité, fondé sur un risque négligeable pour l'écosystème. Il s'agit d'un objectif de qualité.

**valeur d'intervention : Les "valeurs d'intervention pour la réhabilitation des sols" indiquent une contamination "importante" (serious) des sols, correspondant à une menace "importante" pour la faune, la flore ou l'homme.

Il faut noter que ces valeurs sont citées à titre indicatif et sont relativement anciennes.

7.4 HAP

Les HAP ne sont pas présents naturellement dans les sols, néanmoins des phénomènes de combustions parfois naturelles peuvent être à l'origine d'émissions de HAP.

¹ Arrêté du 12 décembre 2014 relatif aux conditions d'admission des déchets inertes dans des installations de stockage de déchets inertes.

Il existe des recommandations d'Environnement Canada² pour les concentrations dans les sols, suivant l'usage du terrain pour certains HAP (Tableau 7).

HAP	RQSE*	RQSCD	Valeurs ubiquitaires (fiches Ineris)
fluoranthène	50-180		
benzo(b)fluoranthène	0.1-10		
benzo(k)fluoranthène	0.1-10		
benzo(a)pyrène	20-72	0.60	0.002
indéno(123cd)pyrène	0.1-10		
anthracène	2.5-32		0.010
dibenzo(ah)anthracène	0.1-10		
naphtalène	0.013		<0.002
pyrène	0.1-100		
phénanthrène	0.046		<0.010
benzo(a)anthracène	0.1-10		

En mg/kg MS, RQSE : Recommandation pour la Protection de l'Environnement, suivant l'usage du terrain, RQSCD :
³Recommandation pour la santé humaine – contact direct (effet cancérigène avec un risque de 10⁻⁶).

Tableau 7 : Recommandations et valeurs ubiquitaires pour certains HAP dans les sols.

Dans des friches polluées, la somme 16 HAP varie entre 650 et 1 625 mg/kg MS (Rapport de l'UMR G2R, ref PF 006 07 F01-V01, 2007).

7.5 PCB DL

D'après l'Agence Environnementale de Grande Bretagne, la concentration moyenne en PCB DL dans les sols est de 1.0 pg TEQ OMS98/g MS.

² Conseil canadien des ministres de l'environnement. 2010. *Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : protection de l'environnement et de la santé humaine – HAP cancérigènes et non cancérigènes*. Dans : *Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999, Conseil canadien des ministres de l'environnement, Winnipeg.*

Cette agence a publié récemment des valeurs guides de dioxines et furanes, et polychlorobiphényles « dioxin-like » (PCB DL) dans les sols⁴.

Ces valeurs guides se basent sur des évaluations des risques sanitaires à partir du profil type de ces composés dans les sols anglais. Les résultats sont exprimés en pg/g de matière sèche (et non en TEQ) pour la somme des 29 composés PCDD/F et PCB DL, et dépendent de l'usage des sols (Tableau 8).

Usage	PCDD/F + PCB DL
Résidentiel	8 000
Jardin familial	8 000
Commercial	240 000

Tableau 8 : Valeurs Guides dans les sols au Royaume Uni (pg/g MS)

8 Méthodologie -Biomarqueurs d'exposition

Les informations concernant la stratégie d'échantillonnage, la collecte, les caractéristiques et le traitement des échantillons sont précisés dans le compte rendu de prélèvement (ANNEXE 1)

Les doses étudiées pour chaque échantillon sont de 100% (sol pur).

8.1 Origine des animaux

Les vers, *Eisenia fetida*, sont élevés dans notre animalerie. Ils sont maintenus dans un milieu d'élevage artificiel identique à celui employé par l'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS, France) et l'élevage est synchronisé (les vers d'une même caisse ayant le même âge à 1 mois près).

Les vers utilisés sont sexuellement matures (clitellum bien développé) donc adultes, d'un poids d'environ 300 mg, et ont entre 4 et 12 mois. Les vers étant hermaphrodites, il n'y a pas lieu de réaliser de différenciation sexuelle.

8.2 Préparation des sols et exposition des animaux



Nous avons placé 500 g de sol pur par cristallisoir. Deux cristallisoirs ont été réalisés pour chaque condition. Le pH a été mesuré (ISO 10390). Dix vers préalablement pesés ont été placés dans le milieu pour une durée de 14 jours (photographie 1). Chaque semaine les vers sont nourris avec du fumier de cheval et le sol est humidifié.

Les fiches d'analyse présentant les résultats bruts des biomarqueurs ainsi que les données d'exposition (pourcentage de mortalité, poids des vers à J14, variation de biomasse, pH et taux d'humidité du sol) sont présentées à la fin de ce rapport.

⁴ <http://www.environment-agency.gov.uk/static/documents/Research/SCHO0909BOYO-e-e.pdf>

8.3 Dosage des biomarqueurs

8.3.1 Fractionnement cellulaire

Les vers sont retirés du milieu, pesés, séparés en deux lots identiques en poids (dans la mesure du possible), puis broyés dans du tampon TRIS (100 mM, pH = 7,5, ajouté dans un rapport poids/volume de 1/3) à l'aide d'un Ultra-Turrax T25 (Janke and Kunkel) pendant une minute à 9 000 tours par minute. L'homogénat est ensuite centrifugé à 9 000 g pendant 30 minutes au moyen d'une centrifugeuse SIGMA 3MK (rotor 12057) équilibrée au poids.

Des parties aliquotes du surnageant (S9) sont prélevées et conservées à -80°C jusqu'à leur utilisation.

8.3.2 Dosage des protéines

Le taux de protéines totales dans les fractions S9 est déterminé par la méthode colorimétrique de Lowry et al. (1951) adaptée au lecteur de microplaque BIO-TEK (FL600).

8.3.3 Dosage des lipides peroxydés

La peroxydation lipidique est la conséquence de la production de radicaux dans la cellule, qui agissent en tant qu'initiateurs de la réaction de peroxydation en chaîne (Cheeseman 1982, Chan 1987). Ces formes actives de l'oxygène entraînent une désorganisation architecturale des phospholipides par réarrangement des doubles liaisons des acides gras insaturés (Kappus 1991).

Le taux de lipides peroxydables a été estimé par la formation des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (Thiobarbituric Acid Reactive Substances ou TBARS) et quantifiée en taux de malonedialdéhyde (MDA) d'après une méthode adaptée de Buege et Aust (1978), réalisée sur lecteur de microplaque BIO-TEK (FL600). Un volume de S9 pur est additionné à un demi-volume de TCA 20% - BHT 0.01%, puis le mélange est centrifugé 10 minutes à 10 000rpm. Un volume de chaque surnageant (600 µl) est placé dans un eppendorf et additionné de HCl 0.6N (120 µl) et Tris 25 mM -TBA 100 mM (480 µl). Les eppendorfs sont ensuite placées à 80°C pendant 15minutes.

Les échantillons sont ensuite placés sur une microplaque pour la lecture. La différence entre les densités optiques du mélange mesurées à 530 nm et 590 nm permet de calculer la concentration de MDA, à l'aide d'une courbe standard de TEP (1,1,3,3 tétraéthoxypropane) traitée de façon identique aux échantillons de S9.

8.3.4 Dosage de l'activité glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase est une flavoprotéine dimérique de poids moléculaire compris entre 118 000 et 124 000 daltons, possédant une molécule de flavine-adénine dinucléotide (FAD) liée à chaque sous-unité et ayant un rôle de coenzyme. Elle est située dans la fraction soluble des cellules eucaryotes et procaryotes. Elle utilise spécifiquement le glutathion oxydé comme accepteur.

L'activité GR a été dosée d'après la méthode de Saint-Denis et al. (1998) adaptée de Gallagher et Di Giulio (1992).

8.3.5 **Dosage de l'activité NADH cytochrome réductase (NADH Red)**

Le terme monooxygénase à cytochrome P450 représente une chaîne de transporteurs d'électrons ayant pour récepteur final le cytochrome P450. Ce complexe enzymatique, enchâssé dans la bicouche lipidique de la membrane du reticulum endoplasmique est formé de plusieurs constituants (Nelson et Strobel 1988), dont l'enzyme NADH cytochrome P450 réductase. Cette flavoprotéine intervient dans le transfert d'électrons aux cytochromes b5 et P450 à partir de NADH.

Cette enzyme peut également jouer un rôle dans la peroxydation des lipides en formant des anions superoxydes en présence d'oxygène (Bast et al. 1983, Sevenian et al. 1990).

Les dosages de ces activités ont été réalisés d'après les méthodes de Lu et al. (1962) et Hayes (1982).

8.3.6 **Dosage de l'activité glutathion-S-transferase (GST)**

Les glutathion-S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles impliquées dans la détoxification cellulaire et l'excrétion de nombreux xénobiotiques ou autres substances physiologiques. Ces enzymes essentiellement cytosoliques catalysent la conjugaison du groupement nucléophile (SH) du glutathion réduit à des composés hydrophobes porteurs de groupements électrophiles.

Le substrat permettant de mesurer l'activité d'un maximum d'isoenzymes est le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB). L'activité GST a été dosée d'après la méthode de Saint-Denis et al. (1998) adaptée de Habig et al. (1974).

8.3.7 **Dosage des activités acétylcholinesterase (AChE)**

L'acétylcholinestérase est une enzyme impliquée dans la transmission de l'influx nerveux. En effet, l'acétylcholine, substrat naturel de l'AChE, est un neuromédiateur qui permet le transfert du potentiel d'action à travers les jonctions neuro-neuronales ou neuro-musculaires.

Ce mécanisme est bien connu chez les vertébrés et chez les insectes. Chez les invertébrés, il existe des cholinestérases dont le rôle est moins bien défini que chez les vertébrés. Ces enzymes sont moins spécifiques (Walker and Thomson 1991).

L'activité AChE est mesurée selon une méthode adaptée de Ellman et al. (1961).

8.3.8 **Dosage de l'activité catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme antioxydante cytosolique, elle catalyse la réaction spontanée de dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Le dosage de l'activité catalase a été réalisé selon la méthode de Saint-Denis et al. (1998) adaptée de Clairborne (1985).

8.4 Expression des résultats

Le taux de peroxydation lipidique est exprimé en nmoles de MDA /mg de protéines.

L'activité spécifique de chacun des enzymes est exprimée en μ moles/mn/mg prot pour l'activité CAT, nmoles/mn/mg prot pour les activités GST, GR, NADH Red et AChE.

8.5 Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Rx64 3.3.3.

La normalité de la distribution a été vérifiée à partir du test de Shapiro-Wilk et l'homogénéité a été testée à l'aide du test de Levene.

Quand les variances sont homogènes, le test de kruskall-Wallis et le test k sont réalisés.

Dans le cas contraire, une ANOVA avec test de Tukey est réalisée.

Enfin, des analyses en composantes principales (ACP) ont également été mise en œuvre afin de voir si l'on peut différencier les différents groupes.

8.6 Echelle multiple (N3BT scale)

L'objectif de cette méthode est de traduire la valeur de chaque biomarqueur pour chacun des groupes étudiés (par exemple différents sites ou dates) en indice de réponse afin de pouvoir calculer un 'indice biomarqueur global' (IBG) auquel on assigne une couleur représentative d'un état de pollution (dans le même esprit que les grilles de l'agence de l'eau pour la qualité des eaux superficielles).

Il est recommandé de sélectionner des biomarqueurs qui présentent des variations significatives, et représentatifs de différentes fonctions de l'organisme (par exemple un marqueur du métabolisme de phase 1, un marqueur du métabolisme de phase 2, un marqueur du stress oxydant, un marqueur de neurotoxicité, et un marqueur physiologique).

Cette méthode s'appuie sur le calcul du rapport de l'amplitude des réponses des biomarqueurs sur l'intervalle de confiance de la moyenne (ICM à 5%) (Narbonne et al., 1999), selon la formule :

$$ICM = \sigma \div \sqrt{n} * t$$

où σ est l'écart type calculé sur l'ensemble des valeurs du marqueur considéré, n le nombre de lots étudiés (tous groupes confondus), et t la valeur du t de Student pour $\alpha = 5\%$ et un degré de liberté de n-1.

Les paramètres suivants sont alors calculés pour tous les biomarqueurs : facteur de réponse RF (valeur maximale/valeur minimale, calculé sur les moyennes), amplitude de réponse RR (valeur maximale - valeur minimale, calculé sur les moyennes), intervalle de confiance IC (2 fois ICM), facteur de discrimination DF ($DF = (RR + IC)/IC$).

Le niveau de discrimination DL ($DL = DF \pm 1$) est déterminé à l'aide d'une méthode graphique et des résultats de l'analyse statistique. Une fois les niveaux de discrimination déterminés pour chacun des biomarqueurs, on va pouvoir attribuer des indices de réponse (IR) pour un marqueur et un site donné en fonction du tableau suivant :

Niveau de discrimination (DL de 1 à 5)	1	2	3	4	5
Indice de réponse (IR)	5				
	4	10			
	3	6	12		
	2	4	7	12	
	1	2	4	8	14

Tableau 9: Niveaux de discrimination et index de réponse (IR)

Le calcul de l'IBG pour chaque groupe consiste alors à effectuer la somme des indices de réponse pour les différents marqueurs. A cet IBG, est associée une couleur représentative d'un niveau de pollution. Il y a 5 niveaux de pollution pris en compte :

IBG	Niveau de pollution	Couleur
1 à 19	environnement non pollué	Bleu
20 à 29	environnement pas ou peu pollué	Vert
30 à 39	environnement modérément pollué	Jaune
40 à 49	environnement sensiblement pollué	Orange
50 à 59	environnement fortement pollué	Rouge

Tableau 10 : Correspondance des niveaux de pollution

9 Mesure des biomarqueurs d'exposition

9.1 Toxicité aigue

Le bilan des résultats est présenté dans le tableau suivant.

Aucun des sols testés ne présente de toxicité aiguë pour les vers après 14 jours d'exposition.

Echantillon	Variation de biomasse (%)	Mortalité
Témoïn ISO	-16.59% ± 1.98	0% ± 0
S1	-10.71% ± 10.82	0% ± 0
S2	-4.05% ± 3.08	0% ± 0
S5	-8.95% ± 7.99	0% ± 0
S7	-9.2% ± 1.7	0% ± 0
S8	-15.43% ± 0.93	0% ± 0
S9	-10.83% ± 4.65	0% ± 0

Tableau 11 : Résultats des tests de toxicité aiguë chez le ver exposé aux 6 sols.

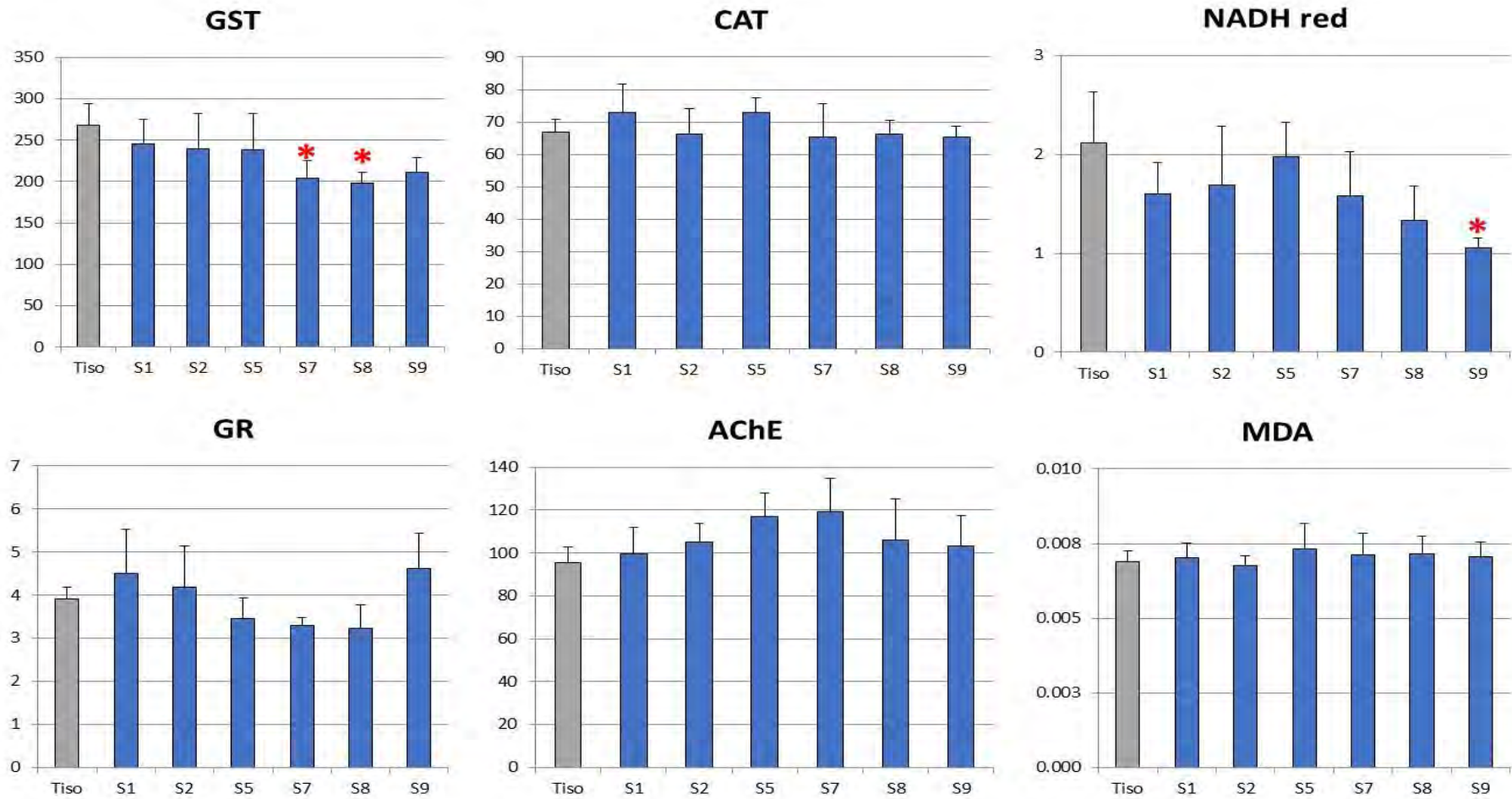
Les baisses de biomasse ne sont pas statistiquement significatives et les doses sans effet sont de 100% (sol pur).

9.2 Variation des biomarqueurs

Un témoin ISO constitué avec du sol artificiel ISO (70% de sable, 20% de kaolin et 10% de tourbe blonde à sphaigne, pH ajusté avec du CaCO₃) a également été réalisé (4 cristallisoirs au total).

Les résultats individuels des biomarqueurs ainsi que l'ensemble des analyses statistiques réalisées sont présentés en ANNEXE 2 et ANNEXE 3.

Le graphe présentant les variations des biomarqueurs des sols du site est présenté en figure 2.



* : résultat significativement différent du témoin ISO ($p < 0.05$), moyenne \pm incertitude par rapport à la moyenne, Unité : $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ protéines; sauf AChE et le taux de MDA : $\text{nmol}/\text{mn}/\text{mg}$ protéines. Tiso: témoin ISO, CAT : catalase, AChE : acétylcholinestérase, NADH red : NADH cytochrome C réductase, GST : glutathion S transférase, GR : glutathion réductase, MDA : lipides peroxydés.

Figure 2 : Variations des biomarqueurs chez Eisenia fetida exposés aux 6 sols

9.2.1 Comparaison des moyennes des six sols

Les variations de l'activité CAT, GR, AChE et MDA sont faibles et non significatives.

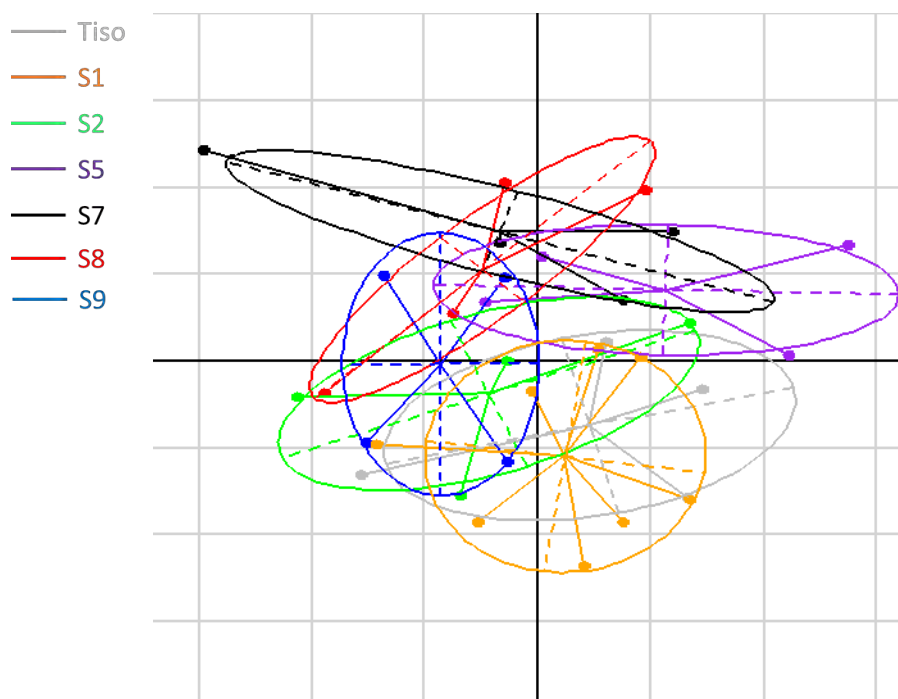
L'activité glutathion S transferase (GST) est significativement moins importante pour les sols S7 et S8 par rapport au témoin et l'activité NADH red est significativement plus faible pour le sol S9.

Les réponses biochimiques sont des marqueurs très sensibles, dont les variations peuvent être dues à la présence de polluants persistants ou ponctuels, mais également à des facteurs environnementaux comme la nature des sols, leurs caractéristiques physico-chimiques (par exemple la teneur en matière organique).

De ce fait, l'utilisation d'outils d'interprétation, comme l'analyse discriminante et l'échelle de gravité, permettent de quantifier l'importance de ces variations.

9.2.2 Analyse en composantes principales

Les différents sols ne sont pas discriminés du témoin ISO.



ACP* réalisée sur toutes les réponses biochimiques chez *Eisenia fetida* exposé aux 6 sols et au témoin ISO (Tiso)

Figure 3 : Groupes obtenu par une *analyse en composante principale

9.2.3 Echelle multiple

En l'absence de résultats significatifs, la réalisation de l'échelle multiple n'est pas pertinente. Un témoin positif a donc été ajouté afin de permettre la réalisation de cette échelle. Ce témoin positif consiste en un sol naturel de référence contaminé avec un mélange connu de Diméthoate (insecticide) et de Chlorotétracycline (antibiotique produit par certaines souches de *Streptomyces aureofaciens*), auquel les vers ont été exposés dans les mêmes conditions que celles de la présente étude.

Tous les biomarqueurs analysés ont été utilisés pour l'élaboration de l'échelle : les activités CAT, GST, AChE, GR, NADH red et le taux de MDA.

Les calculs ont été réalisés à l'aide d'une macro Excel (O. Brack, Khi² - Consulting). L'utilisation de cette échelle permet de classer les sols selon différentes qualités.

Tous les sols ainsi que le témoin ISO apparaissent comme non pollués à l'exception des sols S1 et S9 qui apparaissent comme peu ou pas pollués ainsi que le témoin positif qui est fortement pollué.

Echantillon	Indice de réponse des biomarqueurs						IBG	Niveau de pollution
	CAT	GST	MDA	AChE	NADH	GR		
S1	4	1	1	10	4	4	20.0	Peu ou pas pollué
S2	4	1	1	4	4	2	13.3	Non pollué
S5	4	1	1	4	4	2	13.3	Non pollué
S7	4	1	1	4	4	2	13.3	Non pollué
S8	4	1	1	4	10	2	18.3	Non pollué
S9	4	1	1	4	10	4	20.0	Peu ou pas pollué
Tiso	4	2	1	10	4	2	19.2	Non pollué
T+	10	14	14	10	10	12	58.3	Fortement pollué

Les vers sont exposés aux 6 sols (S#), au témoin ISO (Tiso) et au témoin positif (T+).

Tableau 12 : Indices de réponse des biomarqueurs et Biomarqueur Global (IBG) chez *Eisenia fetida*

9.3 Comparaison avec les années précédentes

Le Tableau 13 récapitule les principaux résultats obtenus pour les années 2012, 2013 et 2015.

Aucune tendance nette ne se dégage de ce tableau.

De plus, la création de Manses 2 ayant entraîné le déplacement de certains points, la comparaison ne peut être réalisée que sur 3 points (1,2 et 5).

En revanche, à chacune de ces campagnes, les sols apparaissent systématiquement comme « non pollués » ou « peu ou pas pollués ».

Critères	2012	2013	2015	2017
Variations faibles, non significatives	AChE, MDA	GR, MDA	GST, GR et AChE	CAT, GR, AChE et MDA
Variations significatives	GST augmente pour S2, S3, S4 et S6	GST augmente pour S2	Taux de MDA augmente pour S5	GST diminue pour S7 et S8
	NADH red augmente pour S2 et S4	NADH red augmente pour S1, S2, S3	NADH red augmente pour S2 et S6	NADH red diminue pour S9
	CAT augmente pour S3 et S6	CAT augmente pour S1	CAT augmente pour S2, S4 et S6	
Analyse discriminante	S3 discriminé du témoin	S2 et S4 discriminés du témoin	aucun sol discriminé du témoin	aucun sol discriminé du témoin
Echelle multiple	non pollués	peu ou pas pollués	non pollués peu ou pas pollué (S5)	non pollués peu ou pas pollué (S1 et S9)

Tableau 13 : Comparaison des résultats obtenus pour les années 2012, 2013, 2015 et 2017.

9.4 Conclusion sur le dosage des biomarqueurs d'exposition

Les variations de l'activité MDA, GR, CAT et AChE sont faibles et non significatives.

L'activité GST diminue de façon significative dans les sols S7 et S8 ainsi que l'activité NADH Reductase dans le sol S9.

Selon l'analyse en composantes principales (ACP), aucun des sols n'est discriminé du témoin ISO et l'utilisation de l'échelle indiciaire permet de les classer comme « non pollué » (ou « peu ou pas pollué » pour S1 et S9).

En conclusion, cette étude ne permet pas de mettre en évidence de perturbations majeures des paramètres biochimiques chez les vers exposés aux sols analysés.

Ces résultats sont comparables aux résultats précédents (2012, 2013 et 2015) où, malgré les variations de certains biomarqueurs, l'ensemble des sols étaient classés comme « non pollués » ou « peu ou pas pollués ».

10 Résultats des dosages chimiques

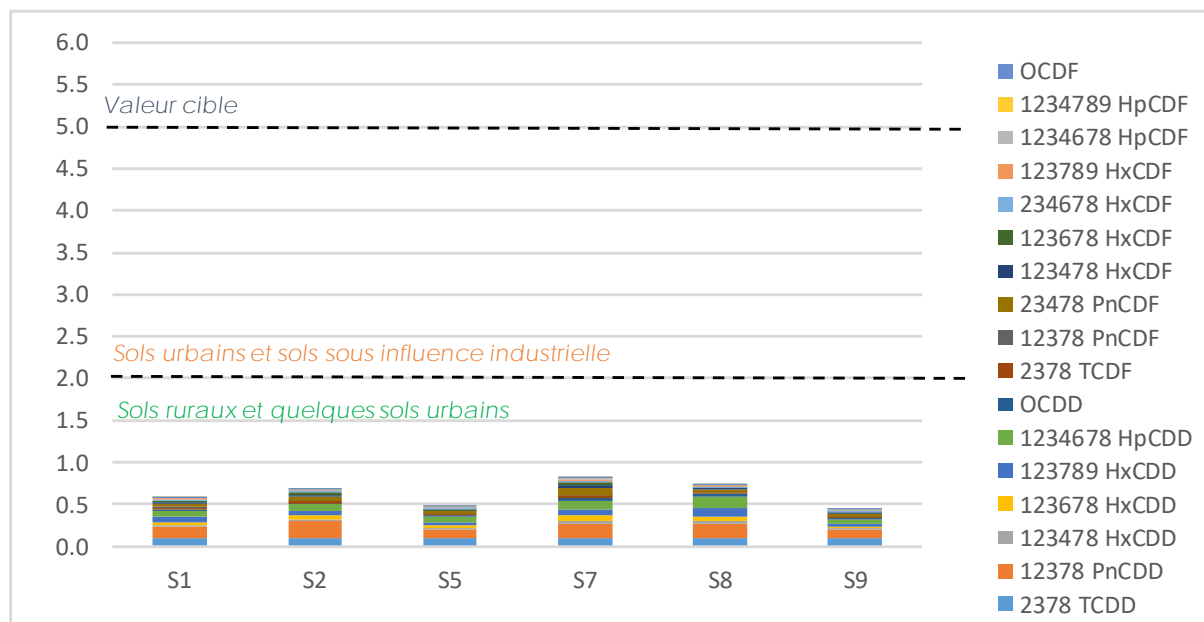
10.1 Dioxines et furanes

Les concentrations en dioxines et furanes mesurées dans les sols en 2017 sont présentées dans le Tableau 14.

		S1	S2	S5	S7	S8	S9	Moy	Max	Min
pg/g MS	Avec LQ	65.2	55.8	74.9	107.6	136.7	51.6	82.0	136.7	51.6
	Sans LQ	60.8	51.6	69.8	103.4	131.9	46.5	77.3	131.9	46.5
pg TEO OMS 98/g MS	Avec LQ	0.6	0.7	0.5	0.9	0.7	0.4	0.6	0.9	0.4
	Sans LQ	0.5	0.6	0.2	0.7	0.6	0.1	0.4	0.7	0.1
pg TEO OMS 2005/g MS	Avec LQ	0.6	0.7	0.5	0.8	0.7	0.4	0.6	0.8	0.4
	Sans LQ	0.5	0.6	0.2	0.7	0.6	0.1	0.4	0.7	0.1

Tableau 14 : Résultats en PCDD/F dans les sols en 2017

Tous les sols présentent des concentrations en PCDD/F inférieures à la valeur cible de 5 pg I-TEQ/g MS et inférieures aux concentrations médianes mesurées dans les sols ruraux et quelques sols urbains (voir Figure 4). La teneur la plus élevée est mesurée au point S7, et la plus faible au niveau du point S9.



En pg TEQ OMS 2005/g MS

Figure 4: Résultats en PCDD/F dans les sols en 2017

La Figure 5 présente la répartition massique des congénères trouvés dans les sols. La répartition des dioxines et furanes est comprise entre 87.5 et 95.9% de dioxines, avec une moyenne de

91.5%. La majorité des congénères (94.6 à 97.7% en masse) est constituée des 4 composés suivants : 1234678HCDD, OCDD, 1234678HCDF et OCDF (composés à 7 ou 8 chlores).

Les différents profils sont relativement similaires.

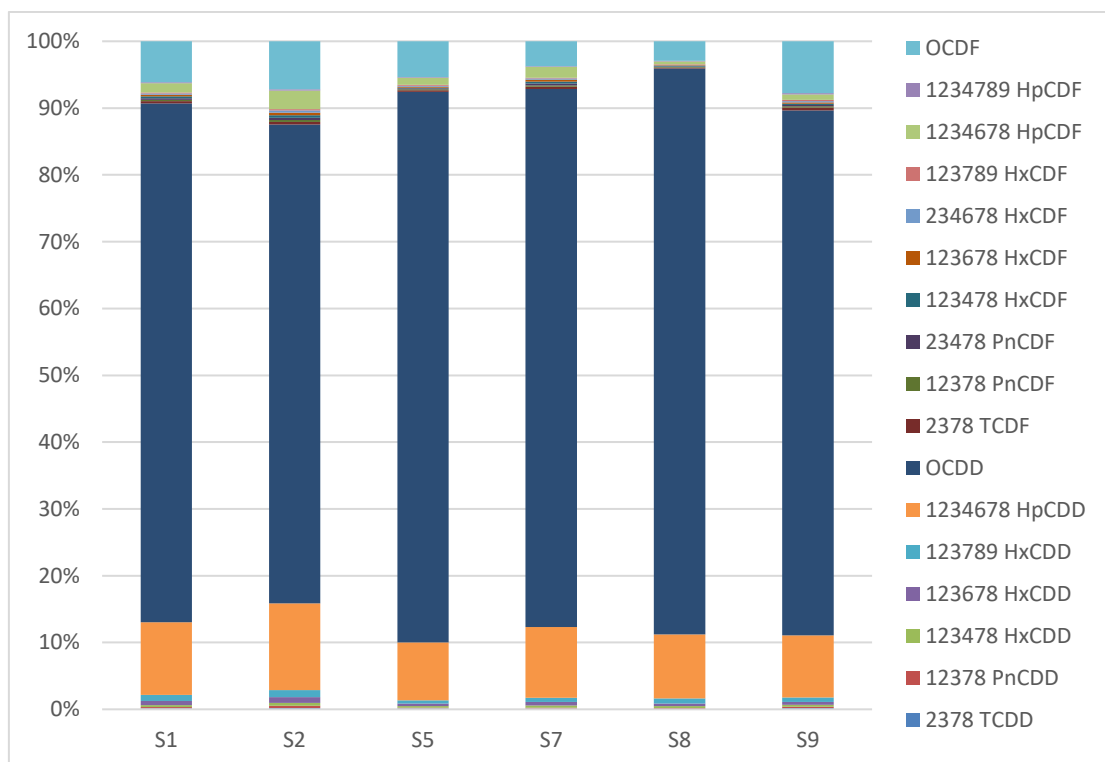


Figure 5: Pourcentage massique des différents congénères de PCDD/F dans les sols en 2017.

Au bilan, les concentrations en dioxines et furanes dans les sols autour de l'installation sont faibles et très inférieures à l'objectif de 5 pg TEQ/g.

10.2 Métaux lourds

Les concentrations dans les sols mesurées en 2017 sont consignées dans le Tableau 15.

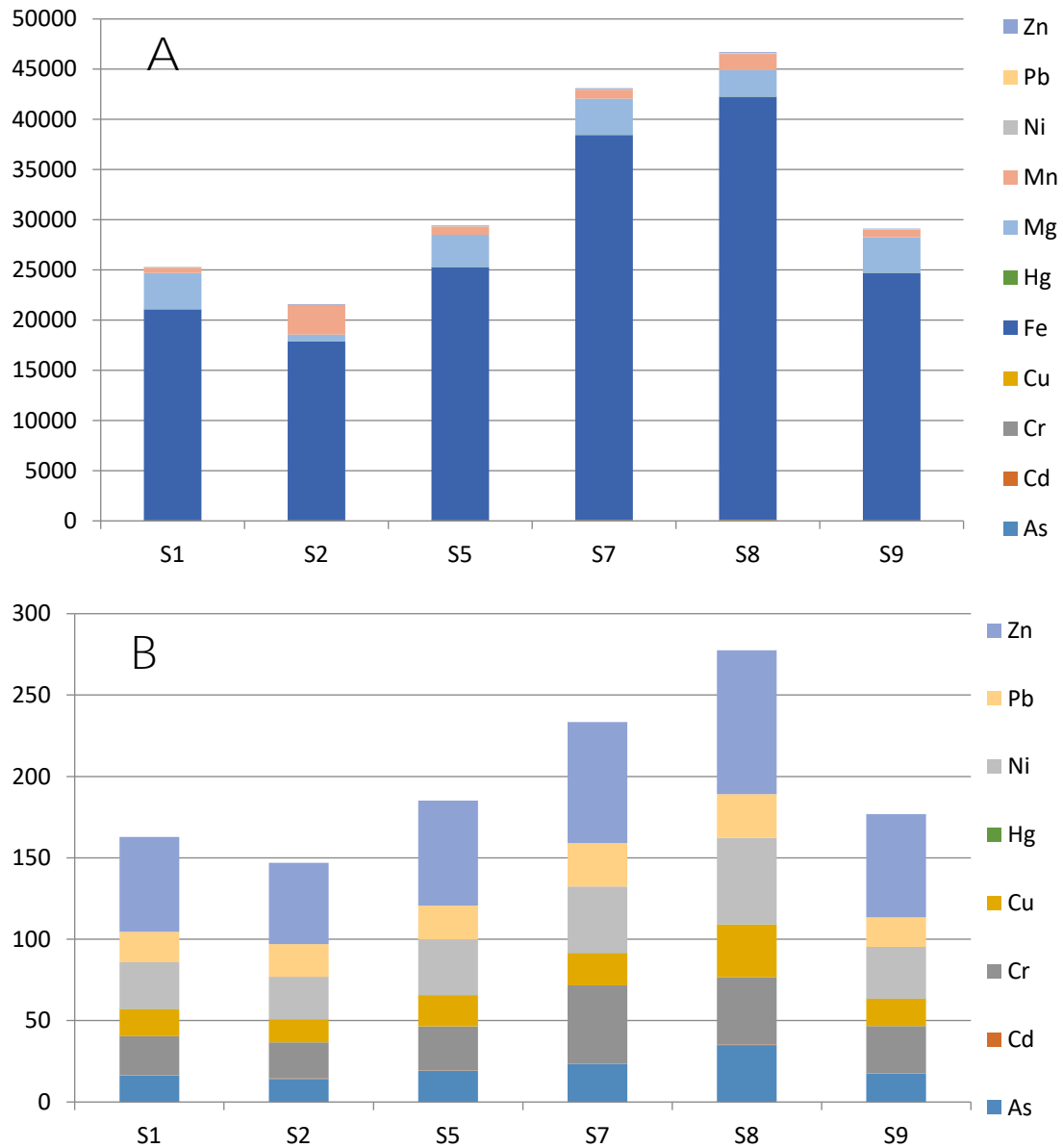
Les valeurs minimales se retrouvent essentiellement en S2 (As, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg et Ni) et S9 (Cd, Pb et Hg) et les maximales en S8 (As, Cd, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn), S7 (Cr, Hg, Mg) et en S2 (Mn).

Les teneurs en métaux sont en accord avec la base de données ASPITET à l'exception de As et Cu dans le sol S8 qui sont au-dessus.

Beaucoup de teneurs en métaux dépassent les données de l'Atlas géochimique (Foregs). C'est le cas de As et le Pb pour tous les sols, du Ni et du Zn pour tous les sols à l'exception des sols S1 et S2, de Hg (pour S1, S7 et S8), Cr (pour S7 et S8) et enfin Cd, Cu et Fe pour le sol S8.

Il faut également noter que la teneur en fer dans le sol S8 est supérieure aux concentrations moyennes dans les sols français.

La Figure 6 (A et B) représente la répartition des métaux pour chacun des points de prélèvements. Les concentrations des trois métaux dominants (Mg, Fe et Mn) étant bien supérieures à celles des autres métaux, ces derniers ne sont pas perceptibles sur la figure 4A. Afin de permettre la visualisation de cette répartition pour les points autres que Mg, Fe et Mn, ces trois métaux ne sont pas représentés sur la Figure 6B. Les proportions sont relativement homogènes dans les différents sols.



(A : tous les métaux – B : tous les métaux sauf Fe, Mn et Mg - en mg/kg MS)

Figure 6: Répartition des différents métaux dans les sols autour de l'ISDND en 2017

(mg/kg MS)	S1	S2	S5	S7	S8	S9	moy	min	max	Foregs	ASPITET
As	16.14	14.17	19.20	23.13	34.95	17.34	20.82	14.17	34.95	12-14	1-25
Cd	0.25	0.24	0.25	0.25	0.34	0.20	0.26	0.20	0.34	0.25-0.29	0.05-0.45
Cr	23.99	22.14	27.02	48.33	41.49	29.20	32.03	22.14	48.33	32-40	10-90
Cu	16.78	14.17	19.15	19.74	32.22	16.73	19.80	14.17	32.22	19-23	2-20
Fe	21027	17838	25205	38362	42132	24640	28201	17838	42132	moyenne sols français 35000	
Hg	0.05	0.04	0.04	0.07	0.05	0.04	0.05	0.04	0.07	0.03-0.04	0.02-0.1
Mg	3603	664	3226	3603	2671	3549	2886	664	3603	sols français : 270 à 9 200	
Mn	532	2947	837	904	1605	741	1261	532	2947	sols français : 270 à 9 200	
Ni	28.58	26.19	34.23	40.84	53.21	31.79	35.81	26.19	53.21	23-30	2-60
Pb	18.80	20.09	20.82	26.62	26.90	18.15	21.90	18.15	26.90	10-18	9-50
Zn	58.24	49.85	64.52	74.39	88.36	63.38	66.46	49.85	88.36	57-63	10-100

Min=fond vert – Max=fond bleu – en mg/kg MS

Tableau 15: Concentrations en métaux dans les sols en 2017 comparées aux valeurs de référence (ASPITET), **selon les données de l'Atlas** géochimique (Foregs) et avec les moyennes dans les sols français (Fe et Mn)

Au bilan, les concentrations en métaux dans les sols sur et autour de l'installation sont en accord avec la base de données ASPITET à l'exception de deux dépassements observés pour l'arsenic et le cuivre en S8. Le sol S8 présente également des concentrations en fer au-dessus des valeurs moyennes trouvées dans les sols français.

10.3 Hydrocarbures C10-C40

Les teneurs en hydrocarbures C10-C40 sont présentées dans le *Vert et gras : minimum, bleu et gras : maximum*

Tableau 16

Hydrocarbures C10-C40 (mg/kg MS)								
S1	S2	S5	S7	S8	S9	Moy	Min	Max
36.0	57.0	45.0	38.0	<13	26.0	40.4	-	57.0

Vert et gras : minimum, bleu et gras : maximum

Tableau 16 : Teneurs en hydrocarbures C10-C40 dans les sols (mg/kg MS) en 2017

Seul le point S2 dépasse les données de référence ou de comparaison (les teneurs dépassent un peu la valeur cible (50 mg/kg MS) néerlandaise). Il faut noter que cette valeur date de 1994 et aucune valeur plus récente n'a été trouvée.

La teneur maximale est mesurée dans le sol S2 et la plus faible dans le sol S8 (en dessous du seuil de détection).

10.4 Autres composés

Les teneurs mesurées dans les sols en 2017 concernant les COV, les phtalate, les pesticide, les PCB et les HAP sont toutes inférieures aux seuils de détection à l'exception du fluoranthène dans le sol S1 (0.013 mg/kg MS). Cette concentration est très en dessous des recommandations pour la protection de l'environnement proposées par Environnement Canada.

11 Conclusion générale

Cette campagne d'analyse a permis de poursuivre le programme de surveillance mis en œuvre depuis 2011 autour de l'installation de stockage de déchets non dangereux de Berbiac (09).

Six échantillons de sols ont été collectés pour la réalisation de dosages chimiques (métaux lourds, PCDD/F, HAP, PCB, COV, pesticides, hydrocarbures...) et d'un essai écotoxicologique (le dosage de biomarqueurs d'exposition).

Les concentrations en polluants métalliques et organiques dans les sols prélevés autour de l'ISDND sont faibles dans l'ensemble, parfois non détectées, proches de celles de la littérature et inférieures aux valeurs de référence existantes. Deux valeurs un peu plus élevées en métaux ont été mesurées au niveau du sol S8 pour l'arsenic et le cuivre. Ce sol (S8) présente aussi une concentration en fer importante (au-dessus de la moyenne des sols français).

L'impact du centre de stockage n'est pas clairement mis en évidence sur ces résultats.

Concernant le dosage des biomarqueurs, les variations des activités sont faibles et non significatives à l'exception de l'activité GST qui diminue de façon significative dans les sols S7 et S8 ainsi que l'activité NADH Reductase dans le sol S9.

Selon l'analyse en composantes principales (ACP), aucun des sols n'est discriminé du témoin ISO et l'utilisation de l'échelle indiciaire permet de les classer comme « non pollué » (ou peu ou pas pollué » pour S1 et S9).

En conclusion, cette étude ne permet pas de mettre en évidence de perturbations majeures des paramètres biochimiques chez les vers exposés aux sols analysés.

Ces résultats sont comparables aux résultats précédents (2012, 2013 et 2015) où, malgré les variations de certains biomarqueurs, l'ensemble des sols étaient classés comme « non pollué » ou « peu ou pas pollués ».

En 2017, le dosage chimique et l'essai écotoxicologique réalisés sur les sols ne mettent pas en **évidence d'effet significatif lié aux activités de l'installation** de stockage des déchets non dangereux de Berbiac. Il faut cependant noter que le sol S8 présente des teneurs au-dessus **de l'ASPITET pour l'As et Cu.**

Il aurait été intéressant d'effectuer un état des lieux initial avant l'ouverture de MANSE 2 car il est possible que les teneurs élevées en As et Cu au point S8 ne soient pas liées à l'agrandissement du site mais à une pollution historique.

ANNEXE 1 : Compte-rendu de la campagne de prélèvements autour de
l'ISDND de Berbiac

Compte rendu de **la campagne de prélèvement d'échantillons de sols et de sédiments** du 07/07/17 autour du centre de stockage de déchets ultimes de Berbiac (09)

1 - Echantillonnage

1.1 - Date des prélèvements

Les échantillons ont été prélevés le 07 juillet 2017.

1.2 - Personnes présentes

M. L. Boulbes (sur site mais n'accompagnant pas le préleveur),
Ph. Soler (Bio-Tox).

1.3 - Stratégie d'échantillonnage

La stratégie d'échantillonnage a été initialement élaborée en accord avec Mme la Maire de Manses et M le directeur du Smectom et d'après les plans et prévisions concernant le devenir du site.

La localisation des prélèvements a été modifiée en 2016 en raison de l'ouverture d'une seconde zone d'exploitation appelée « Manses 2 ». Deux points ont été rajoutés (S7 et S8) et deux points abandonnés (S3 et S4). En 2017, le point S6 a été supprimé du suivi et le point S9 a été rajouté.



Figure 1 : Localisation des prélèvements de sols et de sédiments.



Figure 2 : Localisation des points de prélèvement au niveau de « Manses 1 » et « Manses 2 ».



Figure 3 : Localisation des nouveaux points de prélèvement sur « Manses 2 ».

La localisation des points de prélèvement S1, S2, S5, S7 et S8 est rigoureusement identique à celle de 2016.

Index terrain	Description de l'échantillon	Données géographiques		
		Lat	Long	Précision
2017/SME/42923 - S1	Limon légèrement argileux, brun clair, présence de pierres calcaires de 1 à 10 cm en quantité assez importante. Présence de malacofaune	43.08710°	1.80425°	7m
2017/SME/42923 - S2	Limon, brun, nombreuses racines et galets roulés de 1 à 5 cm	43.09346°	1.82137°	4m
2017/SME/42923 - S5	Argileux, quelques cailloux et racines, brun clair	43.08928°	1.82318°	7m
2017/SME/42923 - S7	Argilo limoneux, quelques galet roulés, brun/jaune	43.09446°	1.82709	5m
2017/SME/42923 - S8	Argilo limoneux, nombreux galet roulés, brun	43.09158°	1.82818	7m
2017/SME/42923 - S9	Argile, brun clair, nombreux petits bouts de bois	43.092628°	1.823811°	4m

1.4 - Collecte des échantillons

La méthode de prélèvements des sols respecte le principe de la norme X31-100. L'échantillon doit être composé d'un certain nombre de prélèvements élémentaires dans une zone présumée homogène sur une couche d'épaisseur choisie et de profondeur donnée. Les éléments grossiers doivent être supprimés.

Les prélèvements de sols ont été effectués au moyen d'une serfouette, d'un marteau de géologue (si nécessaire) et d'une petite pelle inox à une profondeur de 0 à 15 cm. Les sols ont été débarrassés des parties aériennes, des végétaux et des fractions grossières. Une moyenne de 7 prélèvements élémentaires a été réalisée. Ceux-ci ont ensuite été rassemblés et homogénéisés afin d'obtenir un échantillon composite. L'échantillon a ensuite été conditionné dans 1 bidon en PEHD de 6L réservé au test biomarqueurs chez le ver de terre, 2 flacons en verre de 1L et un de 250 ml pour la réalisation des analyses chimiques.



Les coordonnées GPS de chacun des points ont été vérifiées ou relevées dans le cas du point S9.

Des photographies ont été prises.

1.5 - Traitement, conservation et devenir des échantillons

Les échantillons de sols ont été mis à sécher dans nos locaux le 10 juillet 2017 dans la perspective de la réalisation des essais Biomarqueurs chez le ver. Les flacons réservés aux analyses chimiques ont été envoyés au laboratoire le 10 juillet 2017 et réceptionnés le 11 juillet 2017.

Photographies des prélèvements

Echantillon 2017/SME/42923- S1



Echantillon 2017/SME/42923- S2



Echantillon 2017/SME/42923- S5



Echantillon 2017/SME/42923- S7



Echantillon 2017/SME/42923- S8



Echantillon 2017/SME/42923- S9



ANNEXE 2 : Fiche d'analyse des biomarqueurs d'exposition chez le ver *Eisenia fetida* exposé à des sols prélevés autour de l'ISDND de Berbiac

Fiche d'analyse des biomarqueurs d'exposition chez le ver
Eisenia fetida exposé aux 6 sols prélevés autour de l'ISDND de
Berbiac en juillet 2017.

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver Eiseniafetida / andrei
 2017/SME/42923-B fiche d'analyse

Bilan

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	μmol/mn/mg P	μmol/mn/mg P	μmol/mn/mg P	μmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S1	72.90 ± 8.64	1.60 ± 0.32	4.51 ± 1.03	245.05 ± 30.38	99.42 ± 12.55	0,007 ± 0,0005
S2	66.10 ± 7.86	1.69 ± 0.59	4.18 ± 0.96	240.16 ± 42.38	105.18 ± 8.51	0,007 ± 0,0003
S5	72.88 ± 4.48	1.97 ± 0.35	3.45 ± 0.48	238.01 ± 44.38	117.1 ± 10.55	0,007 ± 0,0009
S7	65.37 ± 10.31	1.58 ± 0.45	3.29 ± 0.20	203.52 ± 22.32	119.41 ± 15.5	0,007 ± 0,0007
S8	66.26 ± 4.32	1.33 ± 0.35	3.22 ± 0.56	197.92 ± 13.77	106.20 ± 18.99	0,007 ± 0,0006
S9	65.37 ± 3.24	1.06 ± 0.10	4.62 ± 0.83	211.28 ± 17.43	103.07 ± 14.28	0,007 ± 0,0005

CAT: catalase, GR: glutathione reductase, GST: glutathion-S-transferase, AChE: acetylcholinesterase, MDA: lipids peroxydables

Tiso : Témoin iso = témoin négatif

Talence,
 22/09/2017
 Julie Taberly
 Chargée de mission en environnement

BIO TOX
 18 Impasse de la Fauvette
 33400 Talence
 Siret : 444 022 737 0002 - APE 7490B

Fiche d'analyse Biomarqueurs d'exposition chez le ver Eisenia fetida / andrei 2017/SME/42923-B fiche d'analyse

Référence de l'échantillon: **S1**
 Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers: 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai: réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique:
 Espèce: Eisenia andrei
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers): 2.59 ± 0.04
 Condition d'élevage: En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur: Bio-Tox

Substrat d'essai:
 Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :
 Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S1	0% ± 0	2.59±0,04	-10.71% ± 10.82	28.21%	28.95%	8.20	8.45

Bilan :

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S1	72.90 ± 8.64	1.60 ± 0.32	4.51 ± 1.03	245.05 ± 30.38	99.42 ± 12.55	0,007 ± 0,0005

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S1-100%		05	SME-05a	11.99	11.78	0.29
		05	SME-05b	11.57		
		06	SME-06a	12.40	13.16	1.08
		06	SME-06b	13.93		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S1-100%	SME-05a	81.12	82.82	81.97	72.90	8.64
	SME-05b	72.91	72.74	72.83		
	SME-06a	74.69	76.34	75.52		
	SME-06b	62.41	60.17	61.29		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S1-100%	SME-05a	1.22	1.28	1.25	1.60	0.32
	SME-05b	2.03	2.01	2.02		
	SME-06a	1.45	1.51	1.48		
	SME-06b	1.58	1.71	1.64		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)							
échantillon	S9	Activité GR (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27	
	SME-01b	3.89	4.17	4.03			
	SME-02a	4.21	3.87	4.04			
	SME-02b	3.97	3.77	3.87			
	SME-03a	3.92	3.78	3.85			
	SME-03b	3.52	3.40	3.46			
	SME-04a	4.44	4.82	4.63			
	SME-04b	3.25	3.55	3.40			
S1-100%	SME-05a	5.33	5.38	5.35	4.51	1.03	
	SME-05b	3.02	3.34	3.18			
	SME-06a	5.35	5.24	5.30			
	SME-06b	4.42	3.99	4.21			

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)							
échantillon	S9	Activité GST (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59	
	SME-01b	295.08	319.31	307.20			
	SME-02a	204.48	208.16	206.32			
	SME-02b	286.16	311.24	298.70			
	SME-03a	256.71	278.18	267.45			
	SME-03b	220.48	234.54	227.51			
	SME-04a	302.38	292.04	297.21			
	SME-04b	239.69	252.35	246.02			
S1-100%	SME-05a	282.96	270.45	276.71	245.05	30.38	
	SME-05b	254.64	271.92	263.28			
	SME-06a	217.93	202.80	210.36			
	SME-06b	219.97	239.71	229.84			

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S1-100%	SME-05a	11.99	126.734	100.64	99.42	12.556	13%
	SME-05b	11.57	116.168	95.57			
	SME-06a	12.40	150.734	115.79			
	SME-06b	13.93	125.333	85.68			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S1-100%	SME-05a	0.083	11.99	0.01	0.007	0.0005
	SME-05b	0.087	11.57	0.01		
	SME-06a	0.09	12.40	0.01		
	SME-06b	0.089	13.93	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Site : 444 929 797 00022 - APE 7490B

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver <i>Eisenia fetida</i> / andrei
2017/SME/42923-B fiche d'analyse

2

Référence de l'échantillon :

S2

Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers : 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs : 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai : réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique :

Espèce : *Eisenia andrei*
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers) : 2.71 ± 0.04
 Condition d'élevage : En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur : Bio-Tox

Substrat d'essai :

Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :

Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S2	0% ± 0	2.71±0,04	-4.05% ± 3.08	29.27%	30.35%	8.20	8.70

Bilan :

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	μmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	μmol/mn/mg P	μmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S2	66.10 ± 7.86	1.69 ± 0.59	4.18 ± 0.96	240.16 ± 42.38	105.18 ± 8.51	0,007 ± 0,0003

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S2-100%		07	SME-07a	12.59	11.91	0.96
		07	SME-07b	11.23		
		08	SME-08a	11.44	10.97	0.66
		08	SME-08b	10.51		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT (µmol/mn/mg P)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S2-100%	SME-07a	66.94	67.72	67.33	66.10	7.86
	SME-07b	68.37	68.54	68.45		
	SME-08a	54.24	55.86	55.05		
	SME-08b	74.84	72.33	73.58		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red (µmol/mn/mg P)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S2-100%	SME-07a	0.90	0.92	0.91	1.69	0.59
	SME-07b	1.76	1.65	1.70		
	SME-08a	1.76	1.83	1.80		
	SME-08b	2.34	2.35	2.34		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)							
échantillon	S9	Activité GR (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27	
	SME-01b	3.89	4.17	4.03			
	SME-02a	4.21	3.87	4.04			
	SME-02b	3.97	3.77	3.87			
	SME-03a	3.92	3.78	3.85			
	SME-03b	3.52	3.40	3.46			
	SME-04a	4.44	4.82	4.63			
	SME-04b	3.25	3.55	3.40			
S2-100%	SME-07a	4.60	4.38	4.49	4.18	0.96	
	SME-07b	5.03	5.23	5.13			
	SME-08a	4.23	4.23	4.23			
	SME-08b	2.95	2.76	2.86			

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)							
échantillon	S9	Activité GST (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59	
	SME-01b	295.08	319.31	307.20			
	SME-02a	204.48	208.16	206.32			
	SME-02b	286.16	311.24	298.70			
	SME-03a	256.71	278.18	267.45			
	SME-03b	220.48	234.54	227.51			
	SME-04a	302.38	292.04	297.21			
	SME-04b	239.69	252.35	246.02			
S2-100%	SME-07a	298.25	283.02	290.64	240.16	42.38	
	SME-07b	219.38	195.27	207.33			
	SME-08a	215.75	190.25	203.00			
	SME-08b	259.47	259.87	259.67			

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S2-100%	SME-07a	12.59	132.616	100.28	105.18	8.531	8%
	SME-07b	11.23	131.373	111.38			
	SME-08a	11.44	114.992	95.72			
	SME-08b	10.51	125.053	113.33			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S2-100%	SME-07a	0.08	12.59	0.01	0.007	0.0003
	SME-07b	0.079	11.23	0.01		
	SME-08a	0.075	11.44	0.01		
	SME-08b	0.074	10.51	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Site : 444 929 797 00022 - APE 7490B

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver Eisenia fetida / andrei
2017/SME/42923-B fiche d'analyse

2

Référence de l'échantillon :

S5

Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers : 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs : 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai : réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique :

Espèce : Eisenia andrei
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers) : 2.74 ± 0.01
 Condition d'élevage : En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur : Bio-Tox

Substrat d'essai :

Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :

Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S5	0% ± 0	2.74±0,01	-8.95% ± 7.99	26.30	28.13%	8.05	8.50

Bilan :

unité	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S5	72.88 ± 4.48	1.97 ± 0.35	3.45 ± 0.48	238.01 ± 44.38	117.1 ± 10.55	0,007 ± 0,0009

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S5-100%		09	SME-09a	10.29	9.88	0.58
		09	SME-09b	9.46		
		10	SME-10a	9.97	10.88	1.29
		10	SME-10b	11.80		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S5-100%	SME-09a	70.47	69.80	70.14	72.88	4.48
	SME-09b	78.13	80.09	79.11		
	SME-10a	72.82	73.41	73.11		
	SME-10b	69.40	68.90	69.15		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S5-100%	SME-09a	1.87	1.78	1.83	1.97	0.35
	SME-09b	1.50	1.58	1.54		
	SME-10a	2.26	2.38	2.32		
	SME-10b	2.20	2.20	2.20		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)							
échantillon	S9	Activité GR (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27	
	SME-01b	3.89	4.17	4.03			
	SME-02a	4.21	3.87	4.04			
	SME-02b	3.97	3.77	3.87			
	SME-03a	3.92	3.78	3.85			
	SME-03b	3.52	3.40	3.46			
	SME-04a	4.44	4.82	4.63			
	SME-04b	3.25	3.55	3.40			
S5-100%	SME-09a	2.89	2.71	2.80	3.45	0.48	
	SME-09b	3.82	4.07	3.94			
	SME-10a	3.53	3.45	3.49			
	SME-10b	3.49	3.66	3.58			

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)							
échantillon	S9	Activité GST (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59	
	SME-01b	295.08	319.31	307.20			
	SME-02a	204.48	208.16	206.32			
	SME-02b	286.16	311.24	298.70			
	SME-03a	256.71	278.18	267.45			
	SME-03b	220.48	234.54	227.51			
	SME-04a	302.38	292.04	297.21			
	SME-04b	239.69	252.35	246.02			
S5-100%	SME-09a	188.89	188.49	188.69	238.01	44.38	
	SME-09b	273.96	292.01	282.99			
	SME-10a	250.11	283.97	267.04			
	SME-10b	212.07	214.54	213.31			

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S5-100%	SME-09a	10.29	112.269	103.92	117.19	10.548	9%
	SME-09b	9.46	115.697	116.39			
	SME-10a	9.97	135.686	129.62			
	SME-10b	11.80	147.204	118.84			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S5-100%	SME-09a	0.073	10.29	0.01	0.007	0.0009
	SME-09b	0.072	9.46	0.01		
	SME-10a	0.083	9.97	0.01		
	SME-10b	0.074	11.80	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Site : 444 929 797 00022 - APE 7490B

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver Eisenia fetida / andrei
2017/SME/42923-B fiche d'analyse

2

Référence de l'échantillon :

S7

Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers : 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs : 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai : réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique :

Espèce : Eisenia andrei
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers) : 2.72 ± 0.04
 Condition d'élevage : En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur : Bio-Tox

Substrat d'essai :

Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :

Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S7	0% ± 0	2.72±0,04	-9.2% ± 1.7	26.53%	27.84%	8.15	8.35

Bilan :

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S7	65.37 ± 10.31	1.58 ± 0.45	3.29 ± 0.20	203.52 ± 22.32	119.41 ± 15.5	0,007 ± 0,0007

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S7-100%		11	SME-11a	12.54	11.81	1.04
		11	SME-11b	11.07		
		12	SME-12a	12.42	11.18	1.75
		12	SME-12b	9.94		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S7-100%	SME-11a	50.32	51.96	51.14	65.37	10.31
	SME-11b	72.96	75.43	74.20		
	SME-12a	64.17	65.04	64.61		
	SME-12b	71.43	71.63	71.53		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S7-100%	SME-11a	1.21	1.21	1.21	1.58	0.45
	SME-11b	1.96	2.07	2.02		
	SME-12a	1.20	1.14	1.17		
	SME-12b	1.85	1.96	1.90		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)						
échantillon	S9	Activité GR ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27
	SME-01b	3.89	4.17	4.03		
	SME-02a	4.21	3.87	4.04		
	SME-02b	3.97	3.77	3.87		
	SME-03a	3.92	3.78	3.85		
	SME-03b	3.52	3.40	3.46		
	SME-04a	4.44	4.82	4.63		
	SME-04b	3.25	3.55	3.40		
S7-100%	SME-11a	3.32	3.66	3.49	3.29	0.20
	SME-11b	3.41	3.25	3.33		
	SME-12a	3.27	3.34	3.30		
	SME-12b	3.11	2.92	3.02		

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)						
échantillon	S9	Activité GST ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59
	SME-01b	295.08	319.31	307.20		
	SME-02a	204.48	208.16	206.32		
	SME-02b	286.16	311.24	298.70		
	SME-03a	256.71	278.18	267.45		
	SME-03b	220.48	234.54	227.51		
	SME-04a	302.38	292.04	297.21		
	SME-04b	239.69	252.35	246.02		
S7-100%	SME-11a	164.54	195.11	179.82	203.52	22.32
	SME-11b	216.52	248.89	232.71		
	SME-12a	183.28	206.76	195.02		
	SME-12b	203.80	209.24	206.52		

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S7-100%	SME-11a	12.54	187.249	142.15	119.41	15.500	13%
	SME-11b	11.07	134.88	116.00			
	SME-12a	12.42	141.008	108.10			
	SME-12b	9.94	116.325	111.40			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S7-100%	SME-11a	0.078	12.54	0.01	0.007	0.0007
	SME-11b	0.076	11.07	0.01		
	SME-12a	0.094	12.42	0.01		
	SME-12b	0.078	9.94	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Siret: 444 929 797 00032 - APE 7490B

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver Eisenia fetida / andrei
2017/SME/42923-B fiche d'analyse

2

Référence de l'échantillon :

S8

Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers : 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs : 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai : réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique :

Espèce : Eisenia andrei
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers) : 2.63 ± 0.02
 Condition d'élevage : En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur : Bio-Tox

Substrat d'essai :

Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :

Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S8	0% ± 0	2.63±0,02	-15.43% ± 0.93	24.89%	25.17%	8.05	8.30

Bilan :

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S8	66.26 ± 4.32	1.33 ± 0.35	3.22 ± 0.56	197.92 ± 13.77	106.20 ± 18.99	0,007 ± 0,0006

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S8-100%		13	SME-13a	11.71	11.83	0.17
		13	SME-13b	11.95		
		14	SME-14a	10.90	10.27	0.89
		14	SME-14b	9.64		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S8-100%	SME-13a	64.49	65.99	65.24	66.26	4.32
	SME-13b	60.56	62.19	61.37		
	SME-14a	67.04	66.15	66.59		
	SME-14b	72.29	71.37	71.83		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S8-100%	SME-13a	1.82	1.87	1.84	1.33	0.35
	SME-13b	1.19	1.13	1.16		
	SME-14a	1.11	1.06	1.09		
	SME-14b	1.29	1.20	1.25		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)							
échantillon	S9	Activité GR (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27	
	SME-01b	3.89	4.17	4.03			
	SME-02a	4.21	3.87	4.04			
	SME-02b	3.97	3.77	3.87			
	SME-03a	3.92	3.78	3.85			
	SME-03b	3.52	3.40	3.46			
	SME-04a	4.44	4.82	4.63			
	SME-04b	3.25	3.55	3.40			
S8-100%	SME-13a	2.92	3.26	3.09	3.22	0.56	
	SME-13b	3.18	3.20	3.19			
	SME-14a	3.97	3.98	3.97			
	SME-14b	2.73	2.53	2.63			

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)							
échantillon	S9	Activité GST (µmol/mn/mg P)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59	
	SME-01b	295.08	319.31	307.20			
	SME-02a	204.48	208.16	206.32			
	SME-02b	286.16	311.24	298.70			
	SME-03a	256.71	278.18	267.45			
	SME-03b	220.48	234.54	227.51			
	SME-04a	302.38	292.04	297.21			
	SME-04b	239.69	252.35	246.02			
S8-100%	SME-13a	186.94	200.82	193.88	197.92	13.77	
	SME-13b	189.38	223.19	206.28			
	SME-14a	172.91	187.82	180.37			
	SME-14b	216.77	205.52	211.14			

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S8-100%	SME-13a	11.71	119.95	97.54	106.20	18.991	18%
	SME-13b	11.95	105.597	84.11			
	SME-14a	10.90	144.672	126.39			
	SME-14b	9.64	118.174	116.77			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S8-100%	SME-13a	0.08	11.71	0.01	0.007	0.0006
	SME-13b	0.077	11.95	0.01		
	SME-14a	0.082	10.90	0.01		
	SME-14b	0.075	9.64	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Site : 444 929 797 00022 - APE 7490B

Fiche d'analyse
Biomarqueurs d'exposition chez le ver <i>Eisenia fetida</i> / andrei
2017/SME/42923-B fiche d'analyse

2

Référence de l'échantillon : S9
 Client : Smectom
 Responsable technique : Julie Taberly
 Exposition des vers : 22/08/2017 – 05/09/2017
 Dosage des biomarqueurs : 12/09/2017 – 20/09/2017
 Nature de l'échantillon : sol
 Traitement avant essai : réduction à une fraction <4mm

Réactif biologique :

Espèce : *Eisenia andrei*
 Age : entre 4 et 12 mois
 Gamme de poids (g pour 10 vers) : 2.64 ± 0.02
 Condition d'élevage : En accord avec les recommandations de l'INERIS
 Fournisseur : Bio-Tox

Substrat d'essai :

Sol artificiel ISO (Standard ISO 11268-1)

Environnement de l'essai :

Enceinte thermostatée à 20°C ± 2°C
 Source lumineuse comprise entre 400 et 800 luxes
 Cycle contrôlé lumière / obscurité : 12h / 12h

Données d'exposition:

[C] (%)	Mortalité % (J14)	Poids des vers à J14	Variation de biomasse (%) ± ET	Teneur en eau % (J1)	Teneur en eau % (J14)	pH initial	pH final
Tiso	0% ± 0	2.67±0,09	-16.59% ± 1.98	29.73%	30.04%	6.28	6.70
S9	0% ± 0	2.64±0,02	-10.83% ± 4.65	23.54%	22.97	8.35	8.65

Bilan :

Essai	CAT	NADHred	GR	GST	AChE	Taux de MDA
unité	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	µmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P	nmol/mn/mg P
Tiso	66.89 ± 3.83	2.12 ± 0.51	3.92 ± 0.27	267.96 ± 26.59	95.69 ± 7.139	0,007 ± 0,0004
S9	65.37 ± 3.24	1.06 ± 0.10	4.62 ± 0.83	211.28 ± 17.43	103.07 ± 14.28	0,007 ± 0,0005

Tiso : témoin négatif

Résultats bruts

PROTEINE						
échantillon	n° crist	S9	prot mg/ml	activité	ET	
Tiso-0%		01	SME-01a	12.83	12.78	0.07
		01	SME-01b	12.73		
		02	SME-02a	12.46	11.96	0.70
		02	SME-02b	11.46		
		03	SME-03a	12.62	12.83	0.30
		03	SME-03b	13.05		
		04	SME-04a	12.09	11.97	0.17
		04	SME-04b	11.84		
S9-100%		15	SME-15a	10.91	11.26	0.49
		15	SME-15b	11.61		
		16	SME-16a	10.15	10.29	0.19
		16	SME-16b	10.42		

ACTIVITE CATALASE						
échantillon	S9	Activité CAT ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	57.43	60.02	58.73	66.89	3.83
	SME-01b	64.47	63.55	64.01		
	SME-02a	72.68	72.29	72.48		
	SME-02b	67.49	65.44	66.47		
	SME-03a	66.27	65.81	66.04		
	SME-03b	63.34	60.13	61.73		
	SME-04a	75.05	72.15	73.60		
	SME-04b	73.72	70.43	72.07		
S9-100%	SME-15a	70.99	67.95	69.47	65.37	3.24
	SME-15b	63.52	63.69	63.61		
	SME-16a	64.68	67.94	66.31		
	SME-16b	61.04	63.19	62.11		

ACTIVITE NADH CYTOCHROME REDUCTASE						
échantillon	S9	Activité NADH red ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)			Activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne		
Tiso-0%	SME-01a	2.02	2.09	2.05	2.12	0.51
	SME-01b	2.15	2.02	2.09		
	SME-02a	3.37	3.35	3.36		
	SME-02b	2.83	2.81	2.82		
	SME-03a	1.37	1.33	1.35		
	SME-03b	2.27	2.15	2.21		
	SME-04a	1.14	1.13	1.13		
	SME-04b	1.94	1.88	1.91		
S9-100%	SME-15a	1.07	1.07	1.07	1.06	0.10
	SME-15b	0.97	0.94	0.96		
	SME-16a	1.21	1.16	1.18		
	SME-16b	0.98	1.03	1.01		

ACTIVITE GLUTATHION REDUCTASE (GR)							
échantillon	S9	Activité GR ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	4.21	3.95	4.08	3.92	0.27	
	SME-01b	3.89	4.17	4.03			
	SME-02a	4.21	3.87	4.04			
	SME-02b	3.97	3.77	3.87			
	SME-03a	3.92	3.78	3.85			
	SME-03b	3.52	3.40	3.46			
	SME-04a	4.44	4.82	4.63			
	SME-04b	3.25	3.55	3.40			
S9-100%	SME-15a	3.50	3.75	3.63	4.62	0.83	
	SME-15b	4.82	4.83	4.83			
	SME-16a	5.67	5.56	5.62			
	SME-16b	4.26	4.55	4.40			

ACTIVITE GLUTATHION- S-TRANSFERASE (GST)							
échantillon	S9	Activité GST ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg P}$)				activité	ET
		mesure 1	mesure 2	moyenne			
Tiso-0%	SME-01a	281.78	304.85	293.31	267.96	26.59	
	SME-01b	295.08	319.31	307.20			
	SME-02a	204.48	208.16	206.32			
	SME-02b	286.16	311.24	298.70			
	SME-03a	256.71	278.18	267.45			
	SME-03b	220.48	234.54	227.51			
	SME-04a	302.38	292.04	297.21			
	SME-04b	239.69	252.35	246.02			
S9-100%	SME-15a	205.18	196.39	200.78	211.28	17.43	
	SME-15b	248.80	221.89	235.35			
	SME-16a	198.79	226.29	212.54			
	SME-16b	192.04	200.84	196.44			

ACTIVITE CHOLINESTERASE (AChE)							
échantillon	S9	prot mg/ml	DO (m Do/mn)	Activité (nmol/mn/mg P)	Activité	ET	CV%
Tiso-0%	SME-01a	12.83	121.782	90.42	95.69	7.139	7%
	SME-01b	12.73	118.387	88.57			
	SME-02a	12.46	139.765	106.83			
	SME-02b	11.46	101.042	83.93			
	SME-03a	12.62	141.793	107.01			
	SME-03b	13.05	120.93	88.27			
	SME-04a	12.09	116.359	91.65			
	SME-04b	11.84	135.373	108.83			
S9-100%	SME-15a	10.91	124.762	108.87	103.07	14.276	14%
	SME-15b	11.61	120.908	99.15			
	SME-16a	10.15	91.036	85.39			
	SME-16b	10.42	130.106	118.88			

TAUX de MDA						
échantillon	S9	MDA (nmol/ml S9)	prot mg/ml	MDA (nmol/mg P)	Taux de MDA	ET
Tiso-0%	SME-01a	0.087	12.83	0.01	0.007	0.0004
	SME-01b	0.101	12.73	0.01		
	SME-02a	0.086	12.46	0.01		
	SME-02b	0.075	11.46	0.01		
	SME-03a	0.088	12.62	0.01		
	SME-03b	0.08	13.05	0.01		
	SME-04a	0.085	12.09	0.01		
	SME-04b	0.081	11.84	0.01		
S9-100%	SME-15a	0.078	10.91	0.01	0.007	0.0005
	SME-15b	0.075	11.61	0.01		
	SME-16a	0.078	10.15	0.01		
	SME-16b	0.072	10.42	0.01		

Talence,
22/09/2017
Julie Taberly
Chargée de mission environnement

BIO-TOX
18 Impasse de la Fauvette
33400 Talence
Site : 444 929 797 00022 - APE 7490B

ANNEXE 3: Résultats de l'analyse statistique des biomarqueurs d'exposition

	Shapiro Wilk		Levene		Anova		
	pvalue	conclusion	pvalue	conclusion	Analyse de variance		Tukey
					pvalue	conclusion	
CAT	0.9017	normalité	0.6329	non significatif	0.3974	non significatif	-
GST	0.01092	normalité	0.07883	non significatif	0.01714	significatif	T≠S7; T≠S8
MDA	0.3727	normalité	0.55	non significatif	0.8463	non significatif	-
AChE	0.3296	normalité	0.7276	non significatif	0.06922	non significatif	-
NADH	0.03292	normalité	0.4306	non significatif	0.04258	significatif	T≠S9
GR	0.2747	normalité	0.1857	non significatif	0.02066	significatif	-