

SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT
FRANÇAIS / ENGLISH

**APPORTS DES OUTILS ECOLOGIQUES POUR EVALUER
L'EFFICACITE D'UN TRAITEMENT DE DEPOLLUTION
BILAN ET PERSPECTIVES**

**CONTRIBUTIONS OF ECOLOGICAL TOOLS FOR EVALUATING
EFFICIENCY OF A DEPOLLUTION TREATMENT
EVALUATION AND PERSPECTIVES**

décembre 2013

A.-M. CHARISSOU, T. CHESNOT
– Eurofins Expertises Environnementales

 eurofins | Expertises
Environnementales

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Apports des outils écologiques pour évaluer l'efficacité d'un traitement de dépollution : bilan et perspectives, 2013, 168 pages, n°11-0674/1A
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr
- ✓ RECORD remercie très sincèrement les experts sollicités pour la qualité des échanges et des informations fournies lors de l'élaboration de ce document.

© RECORD, 2013

RESUME

Réalisé pour l'association RECORD, ce document propose un état des lieux sur l'usage des méthodes écologiques pour évaluer l'efficacité d'un traitement de dépollution et, sur les perspectives envisageables.

Après mise en place d'une solution de dépollution sur le terrain, les gestionnaires ont classiquement recours aux outils chimiques pour valider l'efficacité du traitement appliqué (notamment pour l'évaluation des risques sanitaires). Dans un contexte d'essor des méthodes / essais évaluant les effets des contaminants sur les organismes vivants, cette étude avait pour objet de s'intéresser spécifiquement aux outils écologiques existants pouvant intervenir avant et après dépollution de matrices diverses (terrestres, aquatiques et air ambiant) afin d'en apprécier l'efficacité de traitement.

L'étude s'est déroulée selon deux phases complémentaires : un travail bibliographique de recensement et description des travaux disponibles et une réflexion collective menée en consultant des experts et des membres du comité de suivi RECORD.

La phase bibliographique a permis de dégager les principales familles d'outils écologiques existants, le stade de développement / état de validation de chacune d'entre-elles, les caractéristiques et limites scientifiques et techniques les définissant. Elle fait également une analyse des retours d'expériences nationaux et internationaux sur leurs utilisations dans le cadre de traitements de dépollution par compartiment environnemental.

Les retours des experts confirment la pertinence d'interroger des scientifiques spécialistes de différentes disciplines et couvrant l'ensemble des milieux environnementaux pour la qualité de l'étude et sa vision multi compartiments, impliquant une évaluation différenciée de l'utilisation des outils biologiques. Chaque retour obtenu a permis d'apporter un éclairage spécifique et complémentaire notamment sur la définition d'un outil « idéal », sur les freins existants à l'usage des outils écologiques pour valider les traitements de remédiation et sur les voies d'amélioration à envisager.

MOTS CLES

Outils écologiques, biomarqueur, bioessai, bioindicateur, techniques de dépollution, efficacité, avis d'experts.

SUMMARY

Carried out for the RECORD Association, this document is an inventory of ecological methods used to assess the effectiveness of remediation treatment and, possible prospects.

After implementation of a solution of cleanup in situ, the administrators classically resort to the chemical tools to validate the efficiency of the applied treatment (in particular for the assessment of sanitary risks). In a context of development of the methods / tests estimating the effects of contaminants on the living organisms, this study had for object to be specifically interested in the existing ecological tools which can intervene before and after cleanup of diverse matrices (soil, aquatic ecosystem and ambient air) to estimate the efficiency of treatment.

The study was conducted in two complementary phases: a bibliographical work for identification and description of available publications / reports and, a collective analysis by group of experts and members of the monitoring committee RECORD.

Phase literature has identified the main families of ecological tools existing, developmental stage / validation status of each of them, the scientific and technical characteristics and limitations of them. It is also an analysis of returns and international experiences on their use in the pollution treatment by environmental compartment.

The returns of experts confirm the relevance of interviewing scientists from different disciplines and covering all environmental media for the quality of the study and its multi-vision compartments, involving an evaluation differentiated by the use of the biological tools. Each return has got to provide specific and complementary information including the definition of an "ideal" tool, the brakes to use these tools to validate environmental remediation treatments and improving ways to consider.

KEY WORDS

Ecological tools, biomarker, bioassay, bioindicator, pollution treatment, efficiency, expert opinions

1. Contexte et objectif de l'étude

La pollution chimique des différents compartiments de l'environnement est liée à des cocktails de substances d'origine anthropogénique et de leurs produits de dégradation. Si la nécessité de protéger les écosystèmes est avérée, les outils permettant d'apporter un diagnostic sur leur état de santé dépendent de scénarios d'exposition. La surveillance de l'environnement implique la détection des polluants et leur quantification. Il est possible de coupler cette approche chimique à l'évaluation des effets des polluants sur les organismes vivants, soit à l'échelle des individus (au niveau moléculaire ou en considérant l'organisme entier), soit à l'échelle des populations et des communautés.

La première approche fournit des informations ponctuelles dans le temps. Elle renseigne sur la nature du polluant et sa concentration, mais n'informe pas sur l'impact qu'il peut avoir sur l'écosystème. La seconde approche vise à évaluer l'impact des perturbations environnementales sur les organismes vivants et sur les écosystèmes. Les deux approches sont complémentaires. Cependant, après mise en place d'une solution de dépollution sur le terrain, les gestionnaires ont classiquement recours aux outils chimiques pour valider l'efficacité du traitement appliqué (notamment en terme d'évaluation des risques sanitaires).

Dans un contexte d'essor des méthodes / essais évaluant les effets des contaminants sur les organismes vivants, cette étude avait pour objet de s'intéresser spécifiquement aux outils écologiques existants pouvant intervenir avant et après dépollution de matrices diverses (terrestres, aquatiques et air ambiant) afin d'en apprécier l'efficacité de traitement.

Ainsi, l'objectif était **d'identifier les outils spécifiquement appliqués dans le cadre de remédiation permettant de conclure sur la performance (diminution de la charge polluante / toxique) du traitement appliqué** : cette restriction de la bibliographie a été volontairement réalisée afin de répondre à la demande de l'Association RECORD.

Le but est de sensibiliser les acteurs impliqués dans la gestion des sites / écosystèmes contaminés afin qu'ils portent une attention plus prononcée sur l'intégration de l'approche biologique dans le cadre de l'évaluation des risques potentiels liés aux résidus de contamination après traitement (que l'atteinte de seuils réglementaires ne peut exclure).

Dans ce cadre, Eurofins Expertises Environnementales a :

- ✓ collecté des données au travers d'une recherche bibliographique et de contacts d'experts,
- ✓ rappelé certaines définitions, notions et aspects réglementaires sur les outils écologiques,
- ✓ synthétisé les données et résultats obtenus par compartiment environnemental (données bibliographiques et avis d'experts),
- ✓ établi un bilan concernant les freins et les axes d'améliorations à entreprendre afin de développer l'utilisation de ces méthodes dans un contexte de dépollution.

2. Recherche et collecte des données

L'évaluation des effets des contaminants sur les organismes vivants peut se faire à l'aide de différents outils biologiques / écologiques :

- ✓ Les **biomarqueurs** sont des changements structuraux ou fonctionnels, observables et/ou mesurables à divers niveaux d'organisation biologique, qui révèlent l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant ;
- ✓ Les **bioessais** (biotests) sont des expérimentations en laboratoire reposant sur l'exposition d'organismes vivants, à un ou plusieurs paramètres pour lesquels des effets sont recherchés. Ces bioessais respectent un protocole expérimental précis pouvant être normalisé ;
- ✓ Les **bioindicateurs** sont des organismes (végétaux ou animaux) ou des ensembles d'organismes qui révèlent par leur présence, leur absence ou leur comportement démographiques, les caractéristiques et l'évolution d'un milieu.

La première base documentaire de cette étude a été constituée au moyen d'ouvrages de référence produits par de nombreux organismes français et internationaux pour définir les trois familles d'outils écologiques.

Peuvent être cités comme exemples les organismes, associations suivantes :

- L'**ADEME** (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie) à l'origine de plusieurs programmes de recherche qui ont permis de développer divers outils écologiques (tests d'écotoxicité appliqués à divers scénarii, bioindicateurs de qualité des sols, ...) et qui ont abouti à la rédaction de nombreux travaux et guides relatifs à l'application de ces outils comme outils de surveillance et d'évaluation des effets toxiques,
- L'**INERIS** (Institut national de l'environnement industriel et des risques), acteur dans les comités de normalisation concernant la biosurveillance de l'environnement et ayant réalisé divers rapports scientifiques et de synthèses sur les principes et apports des outils écologiques pour la surveillance des contaminations,
- Les **Agences de l'Eau** qui ont publiées plusieurs guides sur la pollution toxique des milieux aquatiques et l'écotoxicologie,
- D'autres associations et organismes français : **IRSTEA (ex CEMAGREF)**, Association **RECORD**, **BRGM**, **ZABR**, **Ministère de l'Environnement**, **DRE**.
- Le **CIPEL** (Commission internationale pour la protection des eaux du lac Léman),
- LE **PNUE** (Programme des Nations Unies pour l'Environnement).

A noter également qu'un certain nombre d'**ouvrages généraux** sur les outils écologiques publiés par divers spécialistes du domaine ont aussi été consultés dans un objectif spécifique de détermination des aspects fondamentaux et des limites de chacune des familles étudiées.

Cette phase de l'étude, était nécessaire pour déterminer les utilisations, principes, avantages et inconvénients des outils écologiques.

Dans un second temps, des recherches plus spécifiques ont été conduites dans les **moteurs de recherche généralistes et bases de données d'articles scientifiques** (Medline, Science direct) afin de cibler les travaux ayant eu recours aux outils écologiques dans le cadre d'évaluation de l'efficacité de traitements de dépollution, réduisant fortement le champ bibliographique disponible. Cette seconde phase a été menée en ciblant des classes de contaminants fréquemment traités lors de remédiation (éléments métalliques, hydrocarbures simples, aromatiques polycycliques et halogénés).

Afin de compléter cette recherche bibliographique et pour pallier les lacunes rencontrées notamment pour les matrices eaux souterraines et air ambiant, **divers experts** (universitaires, bureaux d'études, organismes publics, organismes privés de dépollution, associations françaises concernant l'air ambiant en particulier) ont également été contactés.

La collecte de données a permis de :

- Rappeler, résumer les caractéristiques des trois familles d'outils écologiques, leur application dans le cadre de méthodes / approches environnementales (cf. 3), leur intervention dans la réglementation française voire européenne (cf. 4).
- Décrire et comparer les évaluations portant sur le recours aux essais / méthodes biologiques avant / après traitement de remédiation par compartiment environnemental ayant abouti à la rédaction d'une synthèse soumise à divers experts (cf. 5).
- Disposer d'informations pour l'établissement d'un questionnaire transmis aux experts (cf. 6).

3. Approches existantes pour l'application des outils écologiques dans le cadre d'évaluations environnementales

a. L'Evaluation du risque écotoxicologique (éRé)

Dans la mouvance de l'Evaluation des Risques Sanitaires, l'Evaluation des Risques Ecologiques (éRé) fait aujourd'hui l'objet d'un intérêt croissant de la part des gestionnaires dans différents secteurs

tels que la gestion des sites et sols pollués, des sites industriels, de l'eau, des aménagements urbains, des infrastructures de transport. Les modalités du déroulement d'une éRé font l'objet d'un consensus général basé sur la méthodologie de l'US EPA (1998) qui considère 3 étapes principales :

- La formulation du problème (définition du schéma conceptuel étudié) avec définition des sources, des voies de transfert (l'exposition) et des cibles exposées (les effets biologiques).
- L'analyse, qui inclut la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets.
- La caractérisation des risques (évaluation d'un indice de risque égal au rapport : Valeur de caractérisation de l'exposition / Valeur d'absence d'effet).

Une éRé peut être abordée selon une approche « substances » ou « matrices ». Dans l'approche « substances », les valeurs utilisées pour évaluer les effets sont issues des bases de données écotoxicologiques généralement obtenues à partir de bioessais sur des gammes de concentrations de la substance considérée. Dans l'approche « matrices », les essais écotoxicologiques sont réalisés sur la matrice non diluée et sur des gammes de dilutions de la matrice.

b. Les outils bio-analytiques

Ce sont des méthodes basées sur la mesure sensible et quantitative de réponses biologiques précoces (*i.e.* sub-létales) et spécifiques d'un mode d'action toxique bien caractérisé en termes de polluants effecteurs. Ils sont principalement basés sur les interactions ligand - récepteur biologique qui constituent une étape clé dans le développement de la toxicité d'un grand nombre de xénobiotiques organiques.

Ces outils sont à ce jour également pour beaucoup encore au stade de recherche/développement. Ils n'auront probablement pas ou peu été utilisés dans le cadre d'étude d'efficacité de traitement de dépollution (sauf peut-être l'épuration des eaux usées pour étudier notamment les polluants se liant au récepteur des hormones œstrogènes). Ils constitueront cependant peut-être une des perspectives intéressantes car permettent de cibler des familles de polluants.

c. Les études multi-spécifiques ou intégrées

Il est possible d'intégrer les outils biologiques passés en revue dans cette étude avec des données chimiques dans une approche intégrée pour évaluer la qualité d'un milieu. Cette approche correspond au concept défini par Chapman en 1990, sous le terme d'approche Triade. Cette méthode a été conçue initialement pour l'évaluation des sédiments mais peut être adaptée à la problématique des sols et des eaux contaminés. Cette approche intégrée est basée sur :

- La détermination, du niveau de contamination dans la matrice polluante puis la comparaison aux critères de qualité applicables à la matrice ;
- La toxicité de cette matrice, déterminée à l'aide d'un ou plusieurs biotests, utilisant différents traitements de la matrice (contact direct, eau interstitielle, extrait aqueux ou organique après lixiviation ou percolation) ;
- La structure des populations / communautés, définies par leur biodiversité et le nombre d'organismes présents (inventaires sur site).

Cette approche a été adoptée en Europe par notamment les Pays Bas (Approche Triade) et la Belgique (*Sediment Quality Triad*). Dans ces deux pays, cette approche est soutenue par les autorités nationales locales.

4. Outils écologiques et réglementation française

L'intérêt croissant de la société pour la biodiversité et l'intégrité écologique a incité les gestionnaires du territoire à prendre en compte le risque pour les écosystèmes. De ce fait, plusieurs lois et règlements ont été créés au niveau national et international pour évaluer la qualité des divers compartiments environnementaux soumis aux pollutions. Différents domaines d'interventions des outils biologiques ont été identifiés en France et sont présentés dans le tableau suivant :

Compartiment concerné	Domaine d'intervention	Textes réglementaires	Applications / objectifs
Diagnostic des milieux terrestres	Qualité des sols	- Directive Sols en projet depuis le 22 septembre 2006	- Aucune politique en vigueur actuellement
	Gestion des sites et sols pollués	- Guide de gestion et de réaménagement des sites pollués, annexé à la circulaire ministérielle du 8 février 2007	- Protection de la biodiversité et des écosystèmes au moyen d'inventaires de terrain et détermination d'indicateurs écologiques
Diagnostic des milieux aquatiques	Caractérisation des rejets d'effluents	- La loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques adoptée le 30 décembre 2006 - L'arrêté ministériel du 21 décembre 2007	- Atteinte d'un bon état des eaux d'ici 2015 évalué par des suivis biologiques - Etablissement des redevances pour pollution de l'eau (matières inhibitrices)
	Etat des masses d'eau superficielles	- La Directive Cadre Européenne sur l'Eau (DCE, 2000) et la Circulaire DCE 2005/12 du 28 juillet 2005 - Les arrêtés préfectoraux	- Règles d'évaluation de l'état écologique et de l'état chimique des eaux douces de surface - Suivi chimique et/ou biologique en amont et en aval d'un rejet
Diagnostic du milieu ambiant	Qualité de l'air	- La loi sur l'air et l'utilisation rationnelle de l'énergie (LAURE) 96-1236, parue le 30 décembre 1996	- la surveillance de l'air par des méthodes chimiques et/ou biologiques, la définition d'objectifs de qualité et l'information du public

Ce cadre réglementaire devrait inciter de plus en plus la prise en compte des outils écologiques au même titre que les analyses chimiques pour les évaluations des milieux impactés. Cependant, cela reste encore peu utilisé.

5. Etat de l'art sur le recours aux méthodes écologiques pour valider l'efficacité de traitement de remédiation

La bibliographie analysée ne se veut pas une analyse exhaustive sur les outils et méthodes écologiques existants. Seuls les travaux ayant plébiscité ces outils en parallèle de traitements de dépollution / remédiation pour en évaluer l'efficacité ont été sélectionnés et étudiés, réduisant fortement le champ bibliographique disponible.

Faisant suite à la recherche bibliographique et afin de la compléter, une interrogation de spécialistes du domaine a été menée par le biais de l'envoi d'un document récapitulatif présentant de manière synthétique les données recueillies en les classant selon le compartiment étudié (terrestre/aquatique/air ambiant).

Pour chacun des polluants ciblés, les principaux outils éco(toxico)logiques décrits dans la bibliographie en tant qu'outils de suivi de l'efficacité de traitement, ont été présentés. Par ailleurs, un tableau récapitulatif est proposé en fin de chaque section. Ce dernier intègre une proposition de « classement » basé sur un ensemble de critères d'évaluation dont le nombre a été volontairement restreint de manière à permettre une comparaison plus aisée par le lecteur.

a. Le compartiment terrestre

Une classe majeure d'outils est prise en compte par les scientifiques dans les travaux publiés. Ce sont les essais biologiques de toxicité ou bioessais. On peut alors se demander pourquoi les catégories d'essais concernant les réponses au sein de la cellule (approche biomarqueur) ou des populations / communautés (approche bioindicateur) restent encore minoritaires malgré les efforts de recherche et d'application mis en place ces dernières années par l'ADEME notamment (e.g. Programme Bioindicateurs de la Qualité des Sols, phase I de 2005-2008 et II de 2009-2011), qui ont ainsi permis le développement de plusieurs bioindicateurs.

La bibliographie parcourue a effectivement souligné l'intérêt potentiel des indicateurs biologiques pour l'évaluation de la qualité des milieux terrestres après dépollution notamment à partir de végétaux, de communautés microbiennes, et des nématodes. Ces bioindicateurs sont des mesures pertinentes pour caractériser le fonctionnement et la qualité des écosystèmes mais ils peuvent présenter des difficultés de mise en œuvre ou d'interprétation car ils intègrent les effets d'autres facteurs que ceux en lien direct avec la pollution (paramètres environnementaux). Il serait intéressant de développer la démarche par l'étude d'autres indicateurs notamment, concernant les végétaux, lorsque la cible est l'écosystème.

D'autres outils permettant de souligner des effets au niveau cellulaire ou moléculaire ont également été cités par quelques auteurs et concernent les enzymes antioxydantes et les métallothionéines. Cependant, le manque de connaissance sur la physiologie, la biochimie et le comportement des organismes sentinelles utilisés (par rapport à l'amplitude des réponses obtenues dans un contexte physiologique normal) peut limiter le recours aux biomarqueurs en tant qu'indicateur d'effet néfaste sur l'environnement. Le fait que les biomarqueurs et bioindicateurs normalisés soient dédiés au compartiment aquatique et le manque de valeurs de référence permettant d'en interpréter les résultats constituent certainement des freins importants à leur utilisation dans le cas de la surveillance des sols.

Bien que les bioessais ne permettent pas de juger spécifiquement du bon état de l'écosystème, ce sont des « intermédiaires » des réponses des organismes vivants à la fois précoces (rapidité de réponse à la contamination chimique) et sensibles (effet spécifique de la nature du contaminant et de sa concentration).

b. Le compartiment aquatique

L'analyse de la bibliographie a souligné l'importance de l'approche biologique notamment pour les rejets de stations d'épuration. Dans ces procédés, les analyses chimiques sont souvent réalisées sur quelques paramètres susceptibles d'être représentatifs de l'efficacité du traitement et non sur l'ensemble des substances présentes. Des bioessais sont parfois associés aux mesures purement physicochimiques : dans ce cas de figure, les tests pratiqués consistent majoritairement à mesurer les effets au niveau individuel et s'attachent essentiellement à décrire les impacts de toxicité aigüe et de génotoxicité dus aux propriétés polluantes des rejets considérées dans leur ensemble. Dans les études les plus récentes, des biomarqueurs et des biocapteurs bactériens sont utilisés en complément des essais écotoxicologiques plus usuels et permettent de cibler les effets de pollutions plus spécifiques.

Il est regrettable de ne trouver aucun exemple dans la bibliographie sur l'application des indices biologiques (IBGN, IBD, IPR, IBMR...) avant et après traitement d'un rejet alors que ces outils sont intégrateurs de pollution et qu'ils permettent d'estimer au mieux la qualité du milieu soumis à un rejet.

La mise en œuvre d'une batterie raisonnée comportant des essais d'écotoxicité *in vivo* et *in vitro* est indispensable notamment dans le suivi de l'efficacité de traitement du milieu aquatique afin de déterminer au mieux le danger toxique lié à la contamination chimique. Le fait qu'une partie des essais soit standardisée permet leurs applications pour la surveillance des rejets et le suivi de leur remédiation ; d'autres nécessitent encore des étapes de validation notamment pour permettre une meilleure compréhension (et une utilisation aisée) par les gestionnaires (biomarqueurs).

Peu d'études ont recours aux essais éco(toxico)logiques pour évaluer l'efficacité d'un traitement appliqué sur des eaux souterraines. La prise en considération de certains de ces outils pour le compartiment aquatique souterrain pourrait permettre pourtant de produire des données relatives à la présence des polluants émergents dans des eaux souvent amenées à être valorisées en tant que ressources pour l'irrigation et la production d'eau potable.

c. Le compartiment air ambiant

Bien que les outils biologiques aient une place prépondérante dans l'évaluation de la qualité de l'air, la difficulté à situer la source de la pollution (du fait de facteurs climatiques changeant) et à la traiter par des techniques spécifiques de dépollution rend le bilan bibliographique sur la thématique très restreint.

Les bioessais réalisés à partir de prélèvements à l'émission et notamment les tests aquatiques nécessitent d'être appliqués sur des phases liquides obtenues après extraction par remise en suspension dans des solvants organiques pouvant être toxiques pour les organismes d'essais. Certains essais ne peuvent être utilisés car nécessitant de trop grandes quantités d'éluat ou d'extrait (par exemple : les tests daphnies ou algues). De plus, ces essais restent peu représentatifs du milieu air.

Le recours aux bioindicateurs concerne essentiellement la surveillance autour des incinérateurs. A ce niveau, les exemples donnés concernent, d'une part, le recours aux végétaux pour lequel des normes décrivent des modalités d'évaluation active ou passive et, d'autre part, le suivi des populations d'abeilles implantées spécifiquement sur site. Des enquêtes menées auprès des réseaux de surveillance de la qualité de l'air, montrent que, malgré l'importance des ressources dédiées par certaines AASQA (Association agréée de surveillance de la qualité de l'air) pour la mise en œuvre des méthodes de biosurveillance, la généralisation de cette approche reste plus que difficile, en raison des différences d'intégration dans les programmes et les plans réglementaires, de sensibilisation et d'accès à la compétence.

Les compartiments terrestre et aquatique ont souligné l'importance du recours à une batterie d'essais et notamment de la présence du niveau trophique des consommateurs. Ceci n'est pas applicable pour le compartiment aérien notamment du fait qu'il est nécessaire d'adapter les essais classiques à la matrice air. En effet, les polluants atmosphériques restent difficiles à piéger. Il est alors nécessaire de mener des études d'impacts en utilisant de la biosurveillance avant et après l'installation d'un procédé de traitement pour en évaluer son efficacité.

Le tableau ci-dessus présente les principaux éléments soulignés par la bibliographie concernant les avantages / limites de chacune des familles d'outils écologiques ainsi qu'une illustration des niveaux de disponibilité des outils pour chacun des compartiments environnementaux.

Notation croissante du paramètre : - / +/- / + / ++ / +++	BIOINDICATEURS - bioindicateurs - bioaccumulateurs	BIOESSAIS - Aigu - Chronique	BIOMARQUEURS
REPRESENTATIVITE ECOLOGIQUE	+++	+	++
OPERATIONNALITE	++	+++	+
INDEPENDANCE SAISONNALITE	-	++	+
COUT	+/- (supérieure à 4 journées de technicien ou d'ingénieur)	++ (entre 1 et 4 journées de technicien ou d'ingénieur)	++ (entre 1 et 4 journées de technicien ou d'ingénieur)
DELAI	- (supérieur ou égal à 21 jours)	++ (inférieur ou égal à 4 jours)	+ (de 5 à 20 jours)
EFFET LONG TERME	+++	+	++
EFFET COURT TERME	+/-	+++	++
Niveau croissant de disponibilité : - / +/- / + / ++ / +++	BIOINDICATEURS - bioindicateurs - bioaccumulateurs	BIOESSAIS - Aigu - Chronique	BIOMARQUEURS
AQUATIQUE Exemples d'outils	+++ - Indices (Macroinvertébrés, diatomées, oligochètes, poissons) - Bioaccumulation (Invertébrés)	+++ - Microcrustacés, algues, bactéries, rotifères - Cytotoxicité sur lignées cellulaires	++ - Inhibition de l'Acétylcholine Estérase sur Bactéries et Invertébrés - Inhibition de la photosynthèse chez les algues - Mesure de l'activité enzymatique de l'EROD sur poissons et Invertébrés
TERRESTRE Exemples d'outils	+++ - Indices (plantes, microarthropodes, nématofaune) - Bioaccumulation (VDT, Escargot) - Inventaires faune / flore	++ <u>Sur sol :</u> Plantes, Vers de terre, microorganismes (bactéries, champignons), collemboles <u>Sur lixiviat :</u> Microcrustacés, algues, bactéries, rotifères <i>Commentaire : Importance de la stratégie d'échantillonnage (maillage)</i>	+ - Mesure du stress oxydatif par dosage d'activité enzymatique ou du glutathion (plantes et vers de terre) - Mesure des protéines de stress : HSP et métallothionéines
AERIEN Exemples d'outils	++ - Indices (lichens) - bioaccumulation (bryophytes, Ray-grass, Tabac)	- <i>Commentaire : Difficulté d'échantillonnage, représentativité des concentrations sur site (filtres, cartouches)</i>	+/- <i>Commentaire : Organisme cible ?</i>

6. Avis d'experts sur les limites et axes d'amélioration des outils écologiques pour leur utilisation après remédiation

Nos recherches ont mis en avant l'existence de freins limitant l'usage des outils biologiques pour évaluer l'efficacité d'une dépollution. Un questionnaire divisé en 3 axes de réflexion présentés ci-après a été transmis à divers experts afin d'aboutir à un avis sur les perspectives d'application des outils écologiques pour évaluer l'efficacité de remédiation :

- Axe 1 : Les freins / limites du recours aux outils biologiques pour valider l'efficacité d'une dépollution
- Axe 2 : Les perspectives / axes d'amélioration pour favoriser le recours aux outils biologiques
- Axe 3 : L'outil biologique « idéal »

Parmi les experts et membres RECORD sollicités :

- certains étaient des « **utilisateurs** » de outils écologiques (dans le cadre notamment de la gestion des matrices (sols, eaux et air) potentiellement polluées) et,
- d'autres étaient plutôt des « **acteurs** » de la construction de certains outils ou de leur applicabilité (retours d'expérience).

Les résultats ainsi obtenus sont fournis dans le rapport, sous forme de synthèse par catégorie d'expert, reprenant les principales informations issues des questionnaires complétés.

7. Conclusion et perspectives

L'efficacité d'un traitement de dépollution dépend de l'adéquation d'une technique mise en œuvre et du contexte de la pollution (origine, nature et forme du polluant, type de milieu pollué et caractéristiques physico-chimiques, ...).

La réglementation conditionne actuellement les objectifs à atteindre (ex : diminution de concentration d'un polluant avec atteinte de seuils pour les eaux ; adéquation de la qualité des milieux et leur usage futur pour les sols pollués ...). Néanmoins, il apparaît que le choix d'une technique ne devrait pas seulement être réalisé sur la base d'un objectif réglementaire mais bien en connaissance des caractéristiques de l'environnement pollué assurant de ce fait son efficacité optimale.

Les outils développés ou en développement qui ont été présentés dans ce rapport visent divers usages :

- Les batteries d'essais écotoxicologiques s'intéressent à l'évaluation du danger d'un rejet par des mesures au moyen d'organismes cibles sensibles testés en conditions de laboratoire qui sont malheureusement peu représentatives des conditions de terrain ;
- Des mesures plus spécifiques au moyen de biomarqueurs vont permettre de cibler certaines familles de substances (endocriniennes, cancérigènes, ...) mais peuvent nécessiter des moyens de mise en œuvre élevés, ainsi qu'une expertise du manipulateur. De plus, un manque de validation persiste ;
- Les mesures de terrain au moyen d'organismes indicateurs vont permettre d'établir que le polluant n'a plus d'effet dans le milieu mais il est alors nécessaire de trouver le bon équilibre entre le diagnostic écologique établi et les facteurs d'influences environnementaux.

Les objectifs de la remédiation des milieux pollués, en plus de limiter les impacts toxiques, sont de retrouver des fonctions écologiques dont dépendent un ou des services et soutenu par des organismes indigènes et structurants (à différencier des espèces cibles sensibles ou résistantes aux pollutions qui sont généralement soit étrangères au système soit non impliquées dans une fonction et / ou un service).

La restauration de services écosystémiques sera réalisée par ces différents organismes, ce qui amène à réfléchir sur l'intégration de ces espèces comme cibles à employer dans les outils de laboratoire.

Parmi les experts interrogés dans cette étude, certains ont souligné que les tests d'écotoxicologie (bioessais et certains biomarqueurs) devraient être utilisés uniquement pour évaluer le risque d'une pollution alors qu'une vision écosystémique devrait être la règle pour estimer l'efficacité d'une réhabilitation.

Le développement de l'usage des outils écologiques reste lié à la mise en place au niveau national voire international d'une démarche intégrative transverse permettant de croiser les données physico-chimiques, les données écologiques classiques (inventaire faune / flore) et les résultats des essais biologiques. Notamment l'approche TRIADE mais aussi l'éRé « Evaluation des Risques Ecologiques » sont des méthodologies à considérer. Pour que les utilisateurs des outils écologiques soient convaincus, il faut pallier les problèmes de méconnaissance de ces méthodes et pouvoir démontrer leur articulation avec les autres outils analytiques (montrer leurs apports, leurs finalités et les valoriser).

Ces outils devraient ainsi être perçus par les utilisateurs comme un complément de données nécessaires à la définition et au suivi d'une pollution et non comme une nouvelle contrainte.

1. Context and aim of the study

The chemical pollution of various environmental compartments is bound to cocktails of anthropogenic substances and their products of degradation. If the necessity of protecting the ecosystems is already proved, tools allowing a diagnosis on their health depend on scenarios of exposure. The surveillance of the environment follows the detection of pollutants and their quantification. It's possible to associate this chemical approach to the evaluation of pollutants effects on living organisms, either on the scale of individuals (at the molecular level or by considering the whole body), or on the scale of the populations and communities.

The first approach supplies punctual information in duration time. It informs about the nature of the pollutant and its concentration, but does not inform about the impact on the ecosystem. The second approach aims at estimating the impact of the environmental disturbances on living organisms and ecosystems. Both approaches are additional. However, after implementation of an *in-situ* cleaned-up solution, the administrators classically resort to the chemical tools to validate the efficiency of the applied process (in particular for sanitary risk assessment).

In a context of methods / assays development estimating the effects of contaminants on living organisms, this study had for object to be specifically interested in the existing ecological tools which can intervene before and after clean-up of diverse matrices (polluted soils, aquatic compartment and ambient air) to validate the efficiency of process.

So, the objective was to **identify tools specifically applied during remediation allowing to conclude on the treatment performance (decrease of the pollution / toxic levels)**: this bibliographical limitation was voluntarily realized to answer at the request of the RECORD Association.

The purpose is to alert the participants involved in the management of sites / contaminated ecosystems so that they integrate the biological approach to assess the potential risk of contamination residues after treatment (even below the statutory thresholds).

As part of this subject, Eurofins Environmental Experts has:

- ✓ Collected data through a bibliographical research and contacts of experts,
- ✓ Reminded several definitions, notions and statutory aspects on the ecological tools,
- ✓ Synthesized the data and the results obtained by environmental compartment (given bibliographical and expert opinions),
- ✓ Established conclusions concerning limits and axes of improvements to develop the use of ecological tools after depollution treatment.

2. Data research and collection

Evaluation of the contaminant effect on living organisms can be realized by various biological / ecological tools:

- ✓ Biomarkers are changes which can be structural or functional, observed and/or measured at diverse levels of biological organization. They can reveal the present or past exposure of an organism with at least a chemical substance with polluting character;
- ✓ Biotests are experiments in laboratory basing on the exposure of living organisms, by following one or several parameters for which the effects are looked for. These bioassays respect a precise experimental protocol which can be standardized;
- ✓ Bioindicators are organisms (plant or animal) or groups of organisms which can reveal the characteristics and the evolution of an environment by their demographic presence, absence or their behavior.

The first collection of documents of this study was established by means of references produced by numerous French and International committees to define the three families of ecological tools.

Can be quoted as examples the following committees, associations:

- ADEME (Agency of the Environment and the Control of the Energy) at the origin of several research programs which allowed to develop diverse ecological tools (ecotoxicity tests applied to diverse scenarios, soil quality bioindicators) and which ended in the publication of numerous works and relative guides concerning their application as tools of monitoring and evaluation of toxic effects,
- INERIS (National Institute of the Industrial Environment and Risks), actor in standards committees concerning the biomonitoring of the environment and having realized several scientific reports and synthesis on the principles and contributions of the ecological tools for the contamination monitoring,
- The Water agencies which published several guides on the toxic pollution of the aquatic compartment and the ecotoxicology approach,
- Other associations and French committees: IRSTEA (ex CEMAGREF), RECORD association, BRGM, ZABR, Ministry of the Environment, DRE.
- The CIPEL (International Commission for the protection of the Lemman Lake),
- THE UNEP (United Nations Environment Program).

Also, a number of general works on the ecological tools published by diverse specialists were also consulted in a specific objective to determine the fundamental aspects and the limits of each studied family.

This phase of study was necessary to determine the uses, the principles, the advantages and the inconveniences of the ecological tools.

Then, more specific researches were led in web search engines and scientific articles databases (Medline, Sciencedirect) to target the works having turned to the ecological tools with evaluation of the efficiency of cleanup, reducing strongly the available bibliographical field. This second phase was led by targeting classes of contaminants frequently treated during remediation (metallic elements, simple, aromatic polycyclic hydrocarbons and halogens).

To complete this bibliographical research and to compensate for the absence of documents in particular for ground waters and ambient air, diverse experts (academics, engineering, public committees, company charged for cleanup, French associations concerning the ambient air in particular) were also contacted.

The collection of data allowed to:

- Remind, summarize the characteristics of three families of ecological tools, their application within methods / environmental approaches (cf. 3), their intervention in the French or European regulations (cf. 4).
- Describe and compare the evaluations concerning the use of biological assays / methods before / after process of remediation by environmental compartment having ended in the writing of a synthesis submitted to diverse experts (cf. 5).
- Have information for the establishment of a questionnaire transmitted to experts (cf. 6).

3. Existing approaches for the application of the ecological tools within environmental evaluations

a. Evaluation of the ecotoxicological risk (éRé)

In the Health risk assessment, evaluation of the ecotoxicological risk (éRé) is today the object of an interest growing into administrator minds of various sectors such as the management of polluted sites and soils, industrial sites, surface water, urban planning, infrastructures of transport. The methods of an éRé derive from a general consensus based on the US EPA methodology (1998) which considers 3 main steps:

- The formulation of the problem (definition of the studied plan) with definition of sources, ways of transfer (the exposure) and exposed targets (the biological effects).
- The analysis, which includes the characterization of exposure and of the effects.
- The characterization of the risks (evaluation of a risk index equal to the relationship: Value of the exposure characterization / Value of the absence of effect).

An éRé can be defined according to an approach "substances" or "matrices". In the "substances" approach, the values used to estimate the effects come from ecotoxicological databases generally obtained from bioassays tested from the considered substance concentrations. In the "matrices" approach, the bioassays are realized on the not diluted matrix and from dilutions of the matrix.

b. The bio-analytical tools

They are methods based on the sensitive and quantitative measure of premature biological answers (i.e. sub-lethal) and are specific of a toxic action mode well characterized in terms of effective pollutants. They are mainly based on the interactions ligand - biological receptor which constitute a key stage in the toxicity development for a large number of xenobiotic organic.

These tools are this day also for a lot still at the stage of search / development. They will not probably have or little used in efficiency study of cleanup treatments (except maybe the purge of waste water to study in particular pollutants being bound to the receptor of estrogenic hormones). They represent one of the interesting perspectives because allow to target families of pollutants.

c. The multi-specific or integrated studies

It is possible to integrate the biological tools reviewed in this study with chemical data in an integrated approach to estimate the environmental quality. This approach corresponds to the concept defined by Chapman in 1990, under the term of "Triad approach". This method was initially designed for the evaluation of sediments but can be adapted to contaminated soils and waters. This integrated approach is based on:

- The determination of the contamination level in the polluting matrix then the comparison to the quality criteria applicable to the matrix;
- The toxicity of this matrix, determined by one or several biotests, using various treatments of the matrix (direct contact, interstitial water, extracted aqueous or organic after lixiviation or percolation);
- The structure of the populations / communities, defined by their biodiversity and the number of present organisms (on-site inventories).

This approach was adopted in Europe by in particular the Netherlands (Triad approach) and Belgium (Sediment Quality Triad). In these two countries, this approach is supported by the local national authorities.

4. Ecological tools and French regulations

The increasing interest of our society for the biodiversity and the ecological integrity incited the administrators to take into account the risk for the ecosystems. Therefore, several laws and regulations were created at the national and international level to estimate the quality of the diverse environmental compartments submitted to pollutions. Various fields for the biological tool interventions were identified in France and are presented in the following board:

Concerned compartment	Intervention field	Statutory texts	Applications / objectives
Diagnosis of terrestrial ecosystems	Soil quality	- Directive soils in project since September 22nd, 2006	- No current politic at present
	Management of polluted sites and soils	- Guide of management and reorganization of polluted sites, annexed to the ministerial circular of February 8th, 2007	- Protection of the biodiversity and the ecosystems by means of in situ inventories and ecological indicators determination
Diagnosis of aquatic ecosystems	Characterization of the effluent discharges	- The law on Water and Aquatic ecosystems adopted on December 30th, 2006 - The ministerial decree of December 21st, 2007	- Achievement of a water good state before 2015 estimated by biological follow-ups - Establishment of taxes for water pollution
	State of the superficial waters	- The Water framework directive (WFD, 2000) and the Circular WFD 2005/12 of July 28th, 2005 - Prefect orders	- Evaluation rules of the ecological and chemical states of the fresh waters - Chemical and/or biological follow-up up and downstream to a discharge
Diagnosis of ambient ecosystems	Ambient air quality	- Air law and the rational use of the energy (LAURE 96-1236), appeared on December 30th, 1996	- the air surveillance by chemical and/or biological methods, the definition of quality objectives and the public information

This regulatory framework should incite more and more the consideration of the ecological tools in the same way as the chemical analyses for the evaluations of the impacted compartments. However, it still remains little used.

5. State of the art on the recourse to the ecological methods to validate the efficiency of remediation treatment

The analyzed bibliography does not aim to be an exhaustive analysis on the existing ecological tools and methods. Only the works having approved these tools in parallel of cleanup / remediation treatments to estimate their efficiency were selected and studied, reducing strongly the available bibliographical field.

Following upon the bibliographical research and to complete it, interrogation of specialists was led by the sending of a recapitulative document presenting in a synthetic way the collected data according to the studied compartment (terrestrial/aquatic/ambient air).

For each of the targeted pollutants, the main tools described in the bibliography concerning the follow-up of the treatment efficiency, were presented. Besides, a summary table is proposed at the end of every section. This integrates a proposal of "ranking" based on a set of evaluation criteria whose number was voluntarily restricted so as to allow an easier comparison by the reader.

a. Terrestrial compartment

A major class of tools is appreciated by the scientists in the published works. They are the biological assays of toxicity or bioassays. We can then wonder why the categories concerning the responses within the cell (biomarker approach) or populations / communities (bioindicator approach) remain still minority in spite of the efforts of research and application set up these last years by the ADEME in particular (e.g. Program Bioindicators of the Quality of Soils, phase I of 2005-2008 and II of the 2009-2011), which so allowed the development of several bioindicators.

The bibliography effectively underlined the potential interest of biological indicators for the evaluation of the soil quality after cleanup in particular from plants, microbial communities, and nematodes.

These bioindicators are relevant measures to characterize the functioning and the quality of the ecosystems but they can present difficulties of implementation or performance because they integrate the effects of other factors that those in direct link with the pollution (environmental parameters). It would be interesting to develop the approach by the study of other indicators in particular, concerning plants, when the target is the ecosystem.

Other tools underlining effects at the cellular or molecular level were also quoted by some authors and concern the antioxidant enzymes and the metallothioneins. However, the lack of knowledge on the physiology, biochemistry and behavior of sentinels used (compared with the amplitude of the answers obtained in a normal physiological context) can limit the recourse to biomarkers as informer of toxic effect on the environment. The fact that standardized biomarkers and bioindicators are dedicated to the aquatic compartment and the lack of reference values for interpretation constitute certainly limits for their use in soil monitoring.

Although bioassays do not allow to judge specifically the good state of the ecosystem, they are "intermediaries" of the biological answers, which are early (speed of answer to the chemical contamination) and sensitive (specific effect concerning the contaminant nature and its concentration).

b. Aquatic compartment

The analysis of the bibliography underlined the importance of the biological approach in particular for the discharges of water-treatment industries. In these processes, the chemical analyses are often realized on some parameters susceptible to be representative of the efficiency of the process and not on all the present substances. Bioassays are sometimes associated to the purely physico-chemical measures: in this case, the practiced tests consist mainly in measuring the effects at the individual level and attempt essentially to describe the impacts of acute toxicity and genotoxicity due to the polluting properties of the discharges. In the most recent studies, biomarkers and bacterial biosensors are used as a supplement to the bioassays more usual and to target the effects of more specific pollutions.

It is regrettable to find no example in the bibliography on the application of the bioindicators (IBGN, IBD, IPR, IBMR) before and after discharge treatment while these tools are integrators of pollution and while they allow to estimate at best the quality of the environment submitted to a discharge.

The implementation of a reasoned battery containing in vivo and in vitro ecotoxicological essays is essential in particular in the follow-up of the efficiency of clean-up treatment in the aquatic environment to determine the toxicity connected to the chemical contamination. A part of the bioassays is standardized and used for the surveillance of the discharges and the follow-up of their remediation; others still require validation in particular to allow a better understanding (and an easy use) by the administrators (biomarkers).

Few studies used biotests to estimate the efficiency of a treatment applied to groundwaters. The consideration of some of these tools for the ground aquatic compartment could produce data relative to the presence of emergent pollutants in these waters often valued as resources for the irrigation and the production of drinking water.

c. Ambient air compartment

Although the biological tools have are important in the evaluation of the air quality, the difficulty to determine the source of the pollution (because of changing climatic factors) and to treat it by specific techniques of cleanup reduce the bibliographical synthesis.

Bioassays realized from emission samples, in particular the aquatic tests require to be applied to liquid phases obtained after extraction in organic solvents which can be toxic for the living organisms. Certain bioassays cannot be used because requiring high quantities of eluate or extract (for example: the tests on daphnids or algae). Furthermore, these tests remain little representative of the aerial environment.

The recourse to bioindicators concerns essentially the surveillance around incinerators. At this level, the examples concern, on one hand, plants for which the standards describe methods of active or passive evaluation and, on the other hand, the follow-up of implanted bees populations. Questionnaire survey transmitted to air quality associations, show that, in spite of the importance of resources

dedicated by certain AASQA (Approved association to monitor the air quality) for implementation of these methods, the generalization of this approach stays more than difficult, because of the differences of integration in the statutory programs and plans, of sensitization and access for competence.

The terrestrial and aquatic compartments underlined the importance of the recourse for a battery of assays in particular the presence of the consumer trophic level. This is not applicable for the air compartment in particular because it is necessary to adapt the classic tests to the matrix air. Indeed, atmospheric pollutants remain difficult to trap. It is then necessary to lead environmental studies by using of the biomonitoring before and after the installation of a treatment to estimate its efficiency.

The table below present the main elements underlined by the bibliography concerning the advantages / limits of each family of ecological tools as well as an illustration of the levels of tool availability for each environmental compartment.

Increasing notation of the parameter : - / +/- / + / ++ / +++	BIOINDICATORS - bioindicators - bioaccumulators	BIOASSAYS - Acute - Chronic	BIOMARKERS
ECOLOGICAL REPRESENTATIVENESS	+++	+	++
OPERATIONAL EFFECTIVENESS	++	+++	+
SEASONALITY INDEPENDENCE	-	++	+
COST	+/- (superior to 4 days of technician or engineer)	++ (between 1 and 4 days of technician or engineer)	++ (between 1 and 4 days of technician or engineer)
DEADLINE	- (superior or equal to 21 days)	++ (Inferior or equal to 4 days)	+ (from 5 to 20 days)
LONG TERM EFFECT	+++	+	++
SHORT TERM EFFECT	+-	+++	++
Increasing level of availability : - / +/- / + / ++ / +++	BIOINDICATORS - bioindicators - bioaccumulators	BIOASSAYS - Acute - Chronic	BIOMARKERS
AQUATIC For exemples	+++ - Indications (Macroinvertebrates, diatoms, oligochaeta, fishes) - Bioaccumulation (Invertebrates)	+++ - Microshellfish, algae, bacteria, rotifers - Cytotoxicity on cell lines	++ - Inhibition of on Bacteria and Invertebrates Acetylcholinesterase - Inhibition of algae photosynthesis - Measure of EROD enzymatic activity on fishes and Invertebrates
TERRESTRIAL For exemples	+++ - Indications (plants, microarthropods, nematodes) - Bioaccumulation (earthworm, Snail) - Fauna / flora inventories	++ <i>Comment : Importance of the sampling strategy (meshing)</i> On soil : Plants, earthworms, microorganisms (bacteria, mushrooms), collembola On eluate : Microshellfish, algae, bacteria, rotifers	+ - Oxidative stress measure by dosage of enzymatic activity or the glutathion (plants and earthworms) - Measure of the stress proteins : Heat Shock Protein and métallothionein
AIR For exemples	++ - Index (lichens) - Bioaccumulation (bryophytes, Ryegrass, Tobacco)	- <i>Comment : Difficulty of sampling, representativity of the on-site concentrations (filters, cartridges)</i>	+- <i>Comment : Target ?</i>

6. Expert opinion on limits and improvement axes for the use of the ecological tools after remediation

Our researches underline the limits for using the biological tools to estimate the efficiency of a cleanup. A questionnaire divided into 3 axes of reflection presented below was transmitted to diverse experts to end in the perspectives of ecological tools application to estimate the efficiency of remediation:

- Axis 1: Brakes / limits in the biological tools recourse to validate the efficiency of a cleanup,
- Axis 2: Perspectives / improvement axes to favor the recourse to the biological tools,
- Axis 3: the "ideal" biological tool.

Among the experts and the requested RECORD members:

- Some people were "users" of ecological tools (in particular for the potentially polluted matrix management (soils, waters and air)) and,
- Others were rather "actors" of the construction of certain tools or their applicability (experience feedback).

The results so obtained are supplied in the document, in the form of synthesis by category of expert, resuming the main information from completed questionnaires.

7. Conclusion and perspectives

The cleanup efficiency depends on the adequacy of an implemented technique and on the context of the pollution (origin, nature and type of the pollutant, the type of polluted environment and physico-chemical characteristics).

The French regulations fix at present the objectives to reach (decrease of pollutant concentration with threshold achievements). Nevertheless, it seems that the choice of a technique would not only be realized on the basis of a statutory but with knowledge of the polluted environment characteristics to reach its optimal efficiency.

The developed tools which were presented in this report aim at diverse uses:

- Ecotoxicological batteries are interested in the evaluation of a discharge danger by the sensitive living organisms measures tested in conditions of laboratory which are unfortunately little representative of *in situ* conditions ;
- More specific measures by biomarkers are going to target certain families of substances (endocrine, carcinogenic) but can require high means of implementation, as well as expertise of the manipulator. Furthermore, a lack of validation persists;
- The *in situ* measures by indicators are going to establish that the pollutant does not have effect anymore in the environment but it is then necessary to find the good balance between the established ecological diagnosis and the environmental factors of influences.

The objectives of the polluted environment remediation, besides limiting the toxic impacts, are to find ecological functions on which depend one or several services and supported by native and structuring organisms (to differentiate sensitive or resistant target species to pollutions which are generally either foreign to the system or not implied in a function and / or a service).

The restoration of ecosystematic services will be realized by these various organisms, what brings to think about the integration of these species as targets to be employed on the laboratory tools.

Among the questioned experts in this study, some people underlined that the ecotoxicological tests (bioassays and certain biomarkers) should be used only to estimate the risk of pollution while an ecosystematic vision should be the rule to estimate the efficiency of rehabilitation.

The development of the ecological tool use remains bound to the implementation at the national level even international of a cross-functional integrative approach to cross the physico-chemical data, the classic ecological data (inventory fauna / flora) and the results of the biological assays. In particular the TRIAD approach but also the éRé “Risk assessment Ecological” are methodologies to be considered. So that the users of the ecological tools are convinced, it is necessary to mitigate the problems of misunderstanding of these methods and to be able to demonstrate their joint with the other analytical tools (show their contributions, their purposes and value them).

These tools would so be perceived by the users as a complement to data necessary for the definition and for the follow-up of pollution and not as a new constraint.