

# Les escargots

A. de Vaufleury, B. Pauget & coll., UMR 6249 Chrono-environnement, Besançon  
Contact : [annette.devaufleury@univ-fcomte.fr](mailto:annette.devaufleury@univ-fcomte.fr)



## DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

**Nom de l'indicateur :** Les escargots, bioindicateurs de la biodisponibilité de contaminants sur site – Indice SET : Somme des Excès de Transfert.

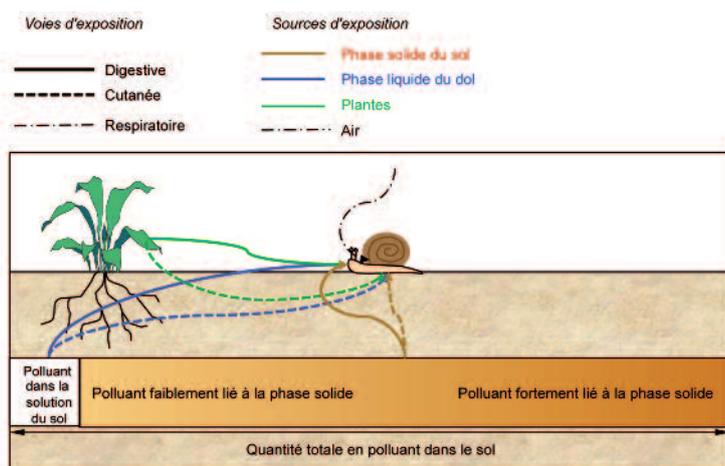


Figure 1 : Exposition des escargots dans l'écosystème terrestre (d'après Scheifler, 2002).

**Rôle écologique de l'organisme testé :** Les escargots sont des macro-invertébrés vivant à l'interface sol-plantes-air. Ces mollusques gastéropodes pulmonés sont phytophages et saprophytes (= niveau trophique des consommateurs primaires et détritovores). Ils ingèrent des végétaux et du sol, se déplacent sur le sol et y pondent leurs œufs. Ils intègrent donc de multiples sources et voies de contamination (cf Fig. 1). Les escargots participent aux échanges avec le sol et sont des proies pour de nombreux consommateurs (invertébrés : vers luisant, larves de carabes, ou vertébrés : oiseaux, petits mammifères comme les musaraignes, hérisson et l'homme).

L'espèce *Helix aspersa* ou *Cantareus aspersus*, ou Petit Gris (photo ci-dessus) est une espèce très largement répartie dans le monde<sup>1,2</sup>. Son élevage étant possible (voir Annexe ISO 15952), on peut disposer d'escargots de passé biologique connu pour les utiliser sur le terrain et analyser la biodisponibilité des contaminants du milieu (sol, plantes, air) par mesure de leur accumulation dans des organismes encagés pendant une durée déterminée.

**Type d'indicateur :** Bioindicateurs d'accumulation : l'analyse des concentrations internes est réalisée dans les viscères d'escargots exposés 28 jours sur site (= méthode statique<sup>2</sup> : 1 seule durée d'exposition). Les analyses sont généralement faites dans cette partie du corps qui concentre souvent les contaminants (métaux notamment ; voir Gomot-de Vaufleury & Pihan, ETC, 2002).

## DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

### Normes et/ou protocoles de référence

Bioindication active *in situ* : des microcosmes (cylindres en acier inoxydable de 25 cm de diamètre sur 25 cm de hauteur fermés par une grille de maille 0,5 ou 1 cm, maintenue par 3 à 4 tiges en inox également) sont placés sur les zones d'étude (Fig. 2).

Dans chaque microcosme on place 15 escargots Petits gris subadultes (5-6 g) issus de l'élevage (voir annexe de l'ISO 15952) ou issus d'éleveurs locaux. Entre la fin de leur élevage et la pose sur le terrain ils peuvent être stockés au sec dans des boîtes en bois (type boîtes à camembert). Ils sont humidifiés pour remise en activité quelques heures avant d'être placés dans les microcosmes où ils seront exposés au sol ainsi qu'aux végétaux ayant poussé sur le site et à l'air ambiant afin d'être dans des conditions naturelles d'exposition (aléas climatiques).

<sup>1</sup> Pour plus de détails, norme ISO 15952 (2006) ou au site [http://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/199863/tab/taxo](http://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/199863/tab/taxo).

<sup>2</sup> Une étude cinétique permettant de modéliser l'assimilation des contaminants peut également être conduite : voir <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=1&cid=96&m=3&catid=10143>

## DESCRIPTION DE LA MÉTHODE



Figure 2 : Exposition *in situ* : biomonitoring actif à l'aide de microcosmes où sont exposés les escargots (à gauche : escargot subadulte, masse fraîche totale 5-6 g, diamètre coquille : 25,6 mm (min/max 21,5-29,9 mm)) ; microcosme ouvert ; microcosmes fermés par les grilles maintenues à l'aide de tiges inox ; ensemble de microcosmes sur une modalité d'un site).

Les concentrations internes en contaminants sont mesurées :

- à t0 : 6 escargots sont utilisés pour analyse des concentrations en contaminants avant exposition (les valeurs médianes des concentrations en As, Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sb, Zn des escargots utilisés pour le programme Bioindicateurs 2 étaient respectivement de 0,32-0,90-2,61-105-2,9-3,15-0,72-0,027-872 mg.kg<sup>-1</sup> MS). Si pour les calculs de QA, on ne dispose pas de la CIREf, on peut éventuellement utiliser à la place les concentrations d'escargots issus de l'élevage à t0.
- après 28 jours pour une étude statique des transferts : 6 escargots sont prélevés après exposition sur le terrain pour l'analyse des contaminants (métaux par ex). Les 9 escargots restants (s'il n'y a pas eu de mortalité) peuvent être utilisés pour analyser d'autres contaminants.

**Plan et méthode d'échantillonnage :** Les expositions peuvent se dérouler entre avril et novembre (hors période de gel). Une fois sur le terrain il faut une 20<sup>aine</sup> de minutes pour fixer un microcosme, placer les escargots, les morceaux de tuiles servant d'abri (Fig. 2) et enfin le couvercle grillagé maintenu avec les tiges.

**Stockage et pré-traitement des échantillons :** Après exposition, les escargots prélevés sont pesés, puis ramenés au laboratoire pour une période de jeûne de 48 heures. Pendant le jeûne, les fèces sont ôtées toutes les 24 heures. Les escargots sont ensuite sacrifiés par congélation à -80°C. Après décongélation, le corps mou est retiré de la coquille, les viscères et le pied (Fig. 2) sont séparés puis séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante. Pour les analyses de contaminants organiques, les tissus sont lyophilisés.

**Description simplifiée de la méthode de mesure :** Matériel courant : escargots ; boîtes de stockage en bois ; microcosmes (avec grille et tiges métallique) ; balance, boîtes plastiques pour le jeûne ; élastiques ; étuve pour séchage puis minéralisation des échantillons, tubes 50 ml ; acide pour minéralisation des tissus ou solvants pour extractions des polluants organiques. Matériel spécifique : pour analyses des éléments métalliques après minéralisation acide ; SAA ou en multi éléments, ICP (MS ou AES). Pour analyses organiques : CG-ECD, HPLC-MS/MS

**Estimation du temps :** exposition 28 jours ; jeûne 2 j ; préparation et analyses environ 3 j (dissection 10 mn pour 5 escargots ; lyophilisation ou séchage à l'étuve 24 à 48h ; minéralisation 24h ; dosage 1/2 journée avec étalonnage de l'appareil pour analyse des métaux).

### Paramètres mesurés

- Concentrations en éléments métalliques (mg.kg<sup>-1</sup> de masse sèche) des viscères
- Calcul des quotients d'accumulation par métal (QA) = ratio des concentrations mesurées et des concentrations internes de référence (CIREf voir ci-dessous) ; si les CIREf ne sont pas disponibles pour le contaminant recherché, on peut se référer à la concentration de ce contaminant dans les escargots avant exposition sur le terrain. Un QA supérieur à 1 caractérise un excès de transfert pour le contaminant considéré.

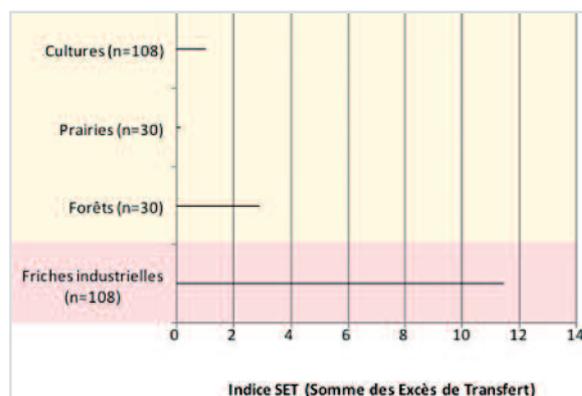


Figure 3 : Gamme de variation de l'indice SET modalité sur les sites du programme Bioindicateur 2.

- Calcul des Sommes des Excès de Transfert de métaux par modalité ( $SET_{\text{modalité}} = \text{somme des QA} - 1 (= \text{QA-métal1} - 1 + \text{QA métal2} - 1 + \dots)$ ). Voir Fig.3. Une note de  $SET > 0$  caractérise un excès de transfert d'au moins un des métaux.
- Calcul de l'indice  $SET_{\text{site}} = (\sum SET_{\text{modalité}}) / \text{nombre de modalités du site}$ .

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

### Nécessité d'un référentiel global, faisant appel à une base de données

Des concentrations internes de référence, déterminées dans les viscères d'escargots exposés 28 jours sur sites non contaminés par les éléments métalliques sont disponibles (CIRef, Tableau 1).

[mg.kg <sup>-1</sup> MS]	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Tl	Zn
CIRef escargot	0,307	2,27	4,68	2,01	184,7	0,19	4,40	5,17	12,9	0,25	1490
Seuil sol*	25	0,45	23	90	20	0,10	1,59	60	62	1,7	100

*Tableau 1* : valeurs des concentrations internes de référence établies sur la base de mesures réalisées sur des escargots exposés sur les sols non contaminés du programme Bioindicateurs 2. Les concentrations « seuil sol » correspondent aux valeurs « normales » dans les sols d'après les données RMQS ou ASPTITET (Baize et al, 2007, Villaneau et al., 2008).

### Disponibilité/accès à la base de données

Les valeurs des CIRef sont disponibles pour les éléments métalliques du tableau 1.

### Informations complémentaires nécessaires (ex : climat, usage, type de sol..)

Aucune, cependant la contamination et les paramètres du sol qui influencent les transferts (ex : pH ; CEC, texture etc (Pauget et al. 2012 et thèse), les conditions climatiques extrêmes qui peuvent influencer l'activité des escargots pendant l'exposition, la présence d'ombrage, la mortalité, éventuellement l'abondance et la nature des végétaux dans les microcosmes peuvent aider à l'interprétation des données.

## EXEMPLE D'APPLICATION

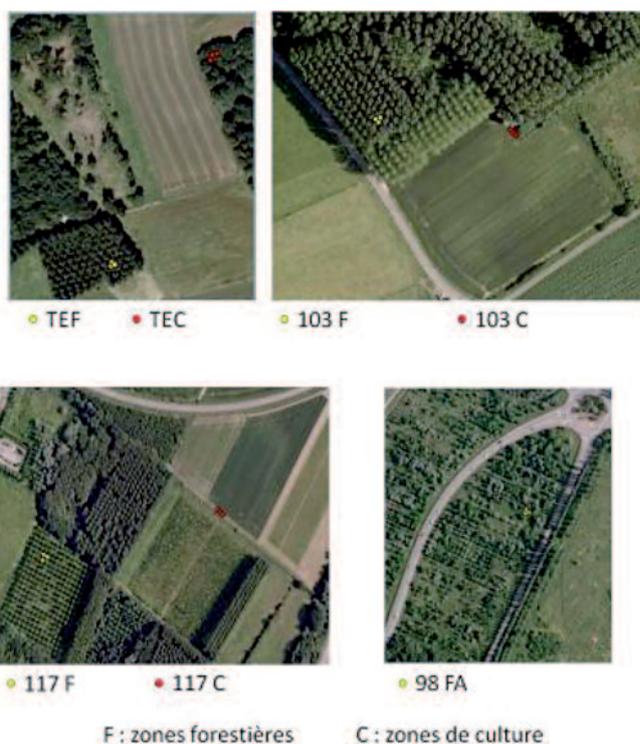
### Site de Métaeurop : 7 modalités étudiées sur cet ancien site métallurgique.

3 microcosmes 6 escargots analysés (2/microcosme) par modalités (Tableau 2).

#### Résultats :

Le site le plus contaminé (98FA avec un  $pH_{\text{eau}}$  de 8 et environ 8 % de matière organique) avec un usage forestier (bois planté il y a 30 ans environ) présente une biodisponibilité élevée des contaminants avec une valeur de l'indice SET de 11,47 (Tableau 3).

Cependant, le classement des sites selon les indices SET ne suit pas toujours le gradient des concentrations en métaux des sols.



Modalité	As	Cd	Cr	Pb	Cu	Zn
	(concentrations des sols en mg.kg <sup>-1</sup> )					
98F	39	34,4	48,6	2485	68	1885
117F	30	13,2	50,3	730	27	745
117C	18	8,5	61,5	481	28	508
103F	9	5,4	51,9	319	19	331
103C	8	3,1	49,4	142	15	226
TEF	7	1,1	41,5	48	12	101
TEC	8	0,9	45,1	41	14	91

Tableau 2 : Concentrations arsenic, cadmium, chrome, plomb, cuivre et zinc des sols du site de Métaleurp

Le site témoin forestier (TEF) présente un transfert important de Cd (ce que sa teneur totale dans les sols ne laissait pas présager), tandis que les modalités fortement contaminées (117C et F qui ont des pH de l'ordre de 8,2 parmi les plus élevés du site) présentent des transferts limités avec une note de SET même inférieure à celle des sites « témoins » intra site (TEF et TEC).

Modalité	Concentration dans l'escargot (mg.kg <sup>-1</sup> MS)						CIRef (mg.kg <sup>-1</sup> MS)						Quotient d'accumulation (QA)						SET <sub>modalité</sub>
	As	Cd	Cr	Pb	Cu	Zn	As	Cd	Cr	Pb	Cu	Zn	As	Cd	Cr	Pb	Cu	Zn	
98FA	0,241	10,9	0,03	112	168	1181							1,00	<b>4,80</b>	1,00	<b>8,67</b>	1,00	1,00	<b>11,47</b>
117F	0,196	6,03	0,213	34,8	136	993							1,00	<b>2,66</b>	1,00	<b>2,69</b>	1,00	1,00	<b>3,35</b>
117C	0,237	1,76	0,581	14,3	141	916							1,00	1,00	1,00	<b>1,11</b>	1,00	1,00	<b>0,11</b>
103F	0,25	9,94	0,588	48,7	153	1304	0,31	2,27	2,01	12,9	185	1490	1,00	<b>4,38</b>	1,00	<b>3,78</b>	1,00	1,00	<b>6,15</b>
103C	0,301	4,73	0,313	61,4	161	1599							1,00	<b>2,53</b>	1,00	<b>4,75</b>	1,00	<b>1,07</b>	<b>5,36</b>
TEF	0,369	8,24	0,03	13,8	136	1651							<b>1,20</b>	<b>3,63</b>	1,00	<b>1,07</b>	1,00	<b>1,11</b>	<b>3,01</b>
TEC	0,383	2,3	0,03	9,95	106	887							<b>1,25</b>	<b>1,15</b>	1,00	1,00	1,00	1,00	<b>0,40</b>

Tableau 3 : calcul des indices somme des excès de transferts (SET<sub>modalité</sub>) sur la base des quotients d'accumulation (QA) établis en confrontant les concentrations internes de référence (CIRef) et concentrations internes d'escargots exposés 28 jours sur les 7 modalités.

L'analyse de la bioaccumulation dans les escargots permet donc de révéler la biodisponibilité variable des éléments métalliques des zones étudiées, ce qu'il n'est pas toujours possible de faire uniquement sur la base des concentrations totales des sols et de caractéristiques physico-chimiques comme pH, teneur en matière organique par exemple.

## INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

- + Intègre tous les facteurs modulant la biodisponibilité des contaminants métalliques du sol pour les escargots.
- + Apporte des informations relatives à l'exposition de consommateurs de niveaux supérieurs (exposition directe et exposition via l'alimentation).
- + Des élevages d'escargots existent en France et en Europe ce qui peut faciliter l'obtention des escargots subadultes.
- On ne dispose à l'heure actuelle de CIRef que pour un nombre limité de contaminants métalliques
- Permet de mesurer l'accumulation des contaminants non dégradés uniquement
- L'étude après une seule durée d'exposition peut donner une vision partielle de l'accumulation car on ne sait pas si les concentrations internes ont atteint leur état d'équilibre (une étude cinétique est plus précise mais aussi plus coûteuse).



UMR Chrono-Environnement à Besançon ; d'autres laboratoires comme l'UMR BIOGECO (M Mench) ont déjà utilisé les microcosmes.

**PUBLICATIONS** : Scheifler et al., *Env Poll* 2003 ; Gimbert et al., *Env Poll* 2008 ; Fritsch et al, *Ecotoxicol.* 2011 ; de Vaufleury et al. 2011 ; Pauget et al, 2012, SETAC, Berlin, Germany.

### CONTACT

annette.devaufleury@univ-fcomte.fr