

Progetto - Projet

GEREMIA - Gestione dei reflui per il miglioramento delle acque portuali



PRODOTTO T2.1.1 : DEFINIZIONE DEL MODELLO CONCETTUALE PER LA CREAZIONE DELL'INDICE INTEGRATO

LIVRABLE T2.1.1 : DÉFINITION DU MODÈLE CONCEPTUEL POUR LA CRÉATION DE L'INDEX INTÉGRÉ

Partner responsabile - Partner responsable : Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale - Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (DiSVA) dell'Università Politecnica delle Marche

Nome del prodotto	Redatto da:	Verificato da:	Validato da:
T2.1.1 - Définition du modèle conceptuel pour la création de l'index intégré	Giuseppe d'Errico, Stefania Gorbi, Francesco Regoli (DiSVA)	Maria Elena Piccione, Sara Dastoli, Valentina Vitiello (ISPRA), Laura Cutroneo (UNIGE)	Marco Capello (UNIGE)

Descrizione del Prodotto: Viene descritto il modello Weight Of Evidence (WOE) per l'Analisi di Rischio Ecologico in ambienti portuali, ed il successivo sviluppo del *tool* applicativo che permette l'elaborazione e l'integrazione complessiva dei risultati ottenuti da sei diverse linee di evidenza.

Description du livrable: Le modèle Weight Of Evidence (WOE) pour l'analyse des risques écologiques dans les environnements portuaires est décrit, ainsi que le développement ultérieur de l'outil d'application qui permet le traitement et l'intégration globale des résultats obtenus à partir de six sources de données différentes.

Sintesi

Al fine di ottenere un indice di valutazione delle acque portuali, è stato sviluppato un modello applicativo basato su un approccio Weight Of Evidence (WOE), come componente fondamentale di uno schema gerarchico di analisi di rischio ambientale applicata alle acque costiere e sedimenti.

L'approccio WOE è basato su indagini multidisciplinari che integrano e danno un peso diverso in funzione della rilevanza ecologica a diverse tipologie di indagine, o linee di evidenza (LOE). Queste LOE includono le tradizionali analisi chimiche ed un ampio spettro di indagini biologiche, condotte sia in condizioni di laboratorio che naturali; l'obiettivo complessivo è quello di stabilire non solo la presenza ma anche la biodisponibilità dei contaminanti e la comparsa di effetti biologici avversi ai diversi livelli, da quello molecolare fino a quelli di organismi o comunità. Sebbene la scelta delle linee di indagine più opportune sia variabile e dipende da obiettivi e specificità locali, l'approccio WOE è in linea con la Direttiva Europea sulle Acque (2000/60/CE; EU, 2006) che richiede agli Stati membri di valutare e classificare lo stato ecologico degli ambienti acquatici integrando diversi elementi di qualità.

In questo documento viene riportato uno schema operativo per l'elaborazione di dati relativi ad una serie di sei possibili LOE utilizzabili all'interno di un'analisi di rischio ambientale in aree portuali.

Queste LOE si riferiscono alla caratterizzazione chimica dei sedimenti (LOE-1), alla caratterizzazione chimica della colonna d'acqua (LOE-2), alla valutazione della biodisponibilità in opportuni organismi bioindicatori (LOE-3), agli effetti biologici sub-letali misurati attraverso l'analisi dei biomarkers (LOE-4), all'applicazione di batterie di saggi ecotossicologici (LOE-5), all'analisi delle comunità bentoniche (LOE-6).

In questa relazione vengono discussi e riportati gli elementi tecnici come la scelta degli analiti chimici da analizzare e dei livelli (o normative) di riferimento; le specie più tipicamente utilizzate come organismi bioindicatori nelle varie condizioni sperimentali; il significato e la funzione biologica dei biomarker che possono essere applicati all'interno di un'analisi di rischio ambientale; i criteri per la scelta dei saggi ecotossicologici in funzione delle ipotesi di rischio, le specie e gli endpoints biologici tipicamente riconosciuti a livello normativo o di linee guida; la descrizione degli indici per la definizione della qualità ambientale tramite le comunità bentoniche.

Synthèse

Afin d'obtenir un indice d'évaluation pour les eaux portuaires, un modèle d'application basé sur une approche de type Weight Of Evidence (WOE) a été développé en tant que composant fondamental d'un schéma hiérarchique d'analyse des risques environnementaux appliqué aux eaux et sédiments côtiers.

L'approche WOE repose sur des enquêtes pluridisciplinaires qui intègrent et accordent un poids différent, en fonction de leur pertinence écologique, à différents types d'enquêtes, ou lignes de preuve (LOE). Ces LOE comprennent des analyses chimiques traditionnelles et un large éventail d'investigations biologiques, menées à la fois en laboratoire et dans des conditions naturelles ; l'objectif global est d'établir non seulement la présence mais aussi la biodisponibilité des contaminants et l'apparition d'effets biologiques néfastes à différents niveaux, de la molécule aux organismes ou aux communautés. Bien que le choix des axes d'investigation les plus appropriés soit variable et dépende des objectifs et des spécificités locales, l'approche WOE est conforme à la directive-cadre européenne sur l'eau (2000/60/CE ;

UE, 2006) qui impose aux États membres d'évaluer et de classer l'état écologique des milieux aquatiques en intégrant différents éléments de qualité.

Ce document fournit un schéma opérationnel de traitement des données pour un ensemble de six possibles LOE qui peuvent être utilisées dans le cadre d'une analyse des risques environnementaux dans les zones portuaires.

Ces LOE font référence à la caractérisation chimique des sédiments (LOE-1), à la caractérisation chimique de la colonne d'eau (LOE-2), à l'évaluation de la biodisponibilité chez les organismes bioindicateurs appropriés (LOE-3), aux effets biologiques sublétaux mesurés par l'analyse des biomarqueurs (LOE-4), à l'application de batteries d'essais écotoxicologiques (LOE-5) et à l'analyse des communautés benthiques (LOE-6).

Ce rapport discute et rapporte les éléments techniques tels que le choix des analytes chimiques à analyser et des niveaux de référence (ou standards) ; les espèces les plus typiquement utilisées comme organismes bioindicateurs dans les différentes conditions expérimentales ; la signification et la fonction biologique des biomarqueurs qui peuvent être appliqués dans le cadre d'une analyse de risque environnemental ; les critères de choix des tests écotoxicologiques en fonction des hypothèses de risque, des espèces et des critères biologiques typiquement reconnus au niveau réglementaire ou des lignes directrices ; la description des indices pour la définition de la qualité environnementale à travers les communautés benthiques.

Index

1. Aperçu et description générale des principaux éléments de preuve pour l'analyse du risque écologique.	1
2. Description des modules et des algorithmes de calcul pour le traitement des données relatives aux éléments de preuve (LDE) proposés pour l'analyse des risques écologiques.	7
2.1 LOE-1 (Caractérisation chimique des sédiments)	8
2.2. LOE-2 (Caractérisation chimique de l'eau).....	17
2.3. LOE-3 (biodisponibilité)	22
2.4. LOE-4 (Biomarqueur).....	27
2.5. LOE-5 (batteries d'essais écotoxicologiques).....	35
2.6. LOE-6 (Communautés benthiques)	40
3. Integration Weight Of Evidence (WOE)	45
4. Bibliographie.....	48

1. **Aperçu et description générale des principaux éléments de preuve pour l'analyse du risque écologique.**

Les caractérisations chimiques des matrices abiotiques, telles que les sédiments et l'eau, représentent des éléments de preuve obligatoires dans un processus qui conduit à la définition du risque écologique. Ces analyses permettent de quantifier précisément les concentrations et la nature des polluants présents, les éventuels gradients spatiaux ou variations temporelles, dont la caractérisation peut être d'une importance fondamentale lorsqu'il s'agit d'évaluer l'état sanitaire d'un environnement, l'impact de déversements accidentels et/ou l'efficacité d'éventuelles mesures de confinement ou d'atténuation. L'interprétation des résultats de l'analyse chimique est normalement confiée à la comparaison avec les valeurs limites indiquées dans des règlements ou des directives spécifiques qui fournissent des normes de qualité environnementale (NQE). Diverses réglementations nationales et internationales comprennent des listes de produits chimiques prioritaires qui peuvent différer en fonction de l'objectif réglementaire.

Malgré l'importance de l'analyse chimique, et donc la nécessité d'inclure des éléments de preuve qui couvrent ce type de caractérisation, il faut également souligner certaines limites importantes. L'évaluation des résultats chimiques est souvent basée sur le dépassement de la limite, même pour un seul contaminant : cependant, ce critère "passe-partout" ne permet pas une discrimination efficace du danger chimique réel qui, évidemment, serait profondément différent selon que le dépassement de la limite concerne une ou plusieurs substances, que ces substances sont biologiquement inertes ou hautement toxiques, que les concentrations mesurées sont seulement légèrement ou des centaines de fois supérieures à la limite dépassée.

Une analyse des risques, ou même une caractérisation plus simple de la qualité de l'environnement basée uniquement sur l'analyse chimique, présenterait également d'importantes limitations de nature conceptuelle. Le choix des contaminants à analyser est rarement exhaustif et représente toujours un pourcentage des substances qui pourraient être présentes. Se baser uniquement sur les composés indiqués dans les réglementations peut être restrictif si l'on considère qu'il n'existe pas de valeurs de référence pour de nombreuses

molécules qui n'ont été identifiées que récemment comme des substances dangereuses et prioritaires (UE, 2006). Lorsqu'un contaminant analysé n'a pas de valeur de référence réglementaire, d'autres critères peuvent être utilisés pour mettre en évidence l'enrichissement anthropique et les risques éventuels pour le biote, notamment la comparaison avec les niveaux de base typiques du site, ou les études scientifiques associant ces substances à l'apparition d'effets toxiques dans les organismes.

Outre la nature des polluants à analyser, le choix des valeurs de référence influence le jugement final et ne doit pas être sous-estimé car l'objectif de protection ou le choix des meilleures options de gestion en dépendent : la même analyse chimique peut déterminer un jugement de qualité très positif ou très négatif lorsqu'elle est comparée à des réglementations ou à des directives ayant des valeurs limites différentes ou qui prévoient des limites pour un nombre différent de composés parmi ceux analysés.

La caractérisation chimique de la matrice abiotique ne permet pas d'évaluer si les composés analysés sont transférables au compartiment biologique, s'ils peuvent être transformés et si, même à des concentrations inférieures aux références réglementaires, ils peuvent encore représenter un risque lié, par exemple, à une toxicité additive ou synergique des différents composés ; en revanche, des concentrations de polluants supérieures aux références réglementaires, qui imposent souvent des conséquences de gestion spécifiques, ne représentent pas nécessairement une condition de danger ou de dommage environnemental car ces substances pourraient être présentes sous des formes non biodisponibles.

Il est désormais universellement reconnu au niveau scientifique qu'il est nécessaire d'aborder cette complexité par une approche multidisciplinaire fondée sur le Weight Of Evidence (WOE), qui intègre et évalue de manière adéquate différents types d'enquêtes ou d'éléments de preuve : ceux-ci doivent prendre en compte, outre l'analyse chimique, un large éventail d'analyses biologiques, réalisées à différents niveaux, du niveau moléculaire à celui de l'organisme ou de la communauté, afin d'établir la présence mais aussi la biodisponibilité des contaminants et l'apparition d'effets biologiques indésirables.

Parmi les sources de données qui prennent en compte les aspects biologiques, l'évaluation de la biodisponibilité est d'une importance fondamentale pour déterminer dans quelle mesure les contaminants présents dans les matrices abiotiques peuvent effectivement

être transférés dans le compartiment biotique et représenter ainsi un risque éventuel pour les organismes et l'environnement. Il existe de nombreux organismes qui présentent des caractéristiques adéquates pour être utilisés comme bioindicateurs, ils sont représentatifs de différents taxons et niveaux trophiques et sont donc utiles à la fois pour les enquêtes au niveau local ou spécifique au site, et pour évaluer la diffusion ou le transfert potentiel de polluants à travers les réseaux trophiques.

La biodisponibilité peut être analysée dans des organismes naturels fournissant des indications écologiquement pertinentes, tandis que l'utilisation d'organismes transplantés (c'est-à-dire provenant d'un site de référence et maintenus pendant une période de quelques semaines dans le site étudié) permet une meilleure évaluation de la biodisponibilité récente, ainsi qu'une éventuelle variation de celle-ci suite à des déversements accidentels de polluants ou à des phénomènes de mouvement des sédiments (Bocchetti *et al.*, 2008 ; Piva *et al.*, 2011 ; Regoli *et al.*, 2013 Benedetti *et al.*, 2014, Regoli *et al.*, 2019).

La présence de polluants biodisponibles peut entraîner des effets de toxicité aiguë et chronique selon l'ampleur et la durée de l'exposition. Un faisceau d'indices basé sur la mesure des effets aux niveaux moléculaire, biochimique et cellulaire permet d'identifier de manière sensible l'apparition des premiers effets perturbateurs causés par les contaminants, même en l'absence de réponses de toxicité plus évidentes au niveau des organismes ou des communautés. En ce sens, les biomarqueurs représentent des signaux d'alarme utiles ayant une valeur prédictive, c'est-à-dire capables d'anticiper l'apparition de futures altérations plus pertinentes sur le plan écologique. Ils sont fondés sur une connaissance approfondie des mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent les processus de métabolisation, de détoxification et de toxicité induits par les principales classes de polluants environnementaux. En ce sens, il existe à la fois des biomarqueurs d'exposition qui répondent à des classes précises de polluants (par exemple, les métaux, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les dioxines et les composés de type dioxine) et des biomarqueurs d'effet, dont certains peuvent refléter des formes spécifiques de risque toxicologique (génotoxicité, cancérogénèse, altérations hormonales et œstrogénicité) ; en ce sens, les biomarqueurs peuvent différer en termes de pertinence biologique selon le point final qu'ils représentent. En plus de la valeur prédictive, les biomarqueurs peuvent également être importants en tant qu'outils de

diagnostic, qui aident à clarifier les causes des phénomènes d'altération mis en évidence au niveau des populations ou des communautés. Certains biomarqueurs indiquent des phénomènes de toxicité potentiellement réversibles, d'autres des dommages irréparables, certains sont très sensibles mais de faible signification toxicologique, d'autres sont plus lents à apparaître mais sont davantage associés à l'état de santé d'un organisme ; de ce point de vue, il n'existe pas de biomarqueur unique pouvant être utilisé seul, mais il est toujours nécessaire d'adopter une approche multi-biomarqueurs qui intègre de nombreuses réponses de signification et de complexité complémentaires (Cajaraville *et al.*, 2000 ; McCarty *et al.*, 2002 ; Galloway *et al.*, 2004 ; Hagger *et al.*, 2006 ; Moore *et al.*, 2006 ; Viarengo *et al.*, 2007 ; Benedetti *et al.*, 2012). L'importance et l'utilité de l'approche par les biomarqueurs sont aujourd'hui attestées par leur utilisation dans toutes les enquêtes visant à évaluer l'impact biologique de la contamination de l'environnement, et par leur mise en œuvre croissante dans les réglementations et les lignes directrices nationales et internationales, telles que celles du plan directeur de surveillance du groupe de travail sur la mer du Nord, du programme intégré de la mer du Nord (Eggens *et al.*, 1995), le National Status and Trends Program de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) (O'Connor, 1998), le Conseil international pour l'exploration de la mer (CIEM), la Commission océanographique intergouvernementale (COI), le Programme des Nations unies pour l'environnement (PNUE, 1999), le programme de surveillance conjoint de la convention OSPAR pour la surveillance de la mer du Nord, notamment en ce qui concerne les activités des compagnies pétrolières, et la plus récente directive-cadre "Stratégie pour le milieu marin" (DCSMM).

Des effets cellulaires aux effets sur l'organisme, l'application d'un faisceau de preuves impliquant des essais écotoxicologiques permet d'évaluer l'éventuel risque de toxicité pour de nombreuses matrices abiotiques (sédiments, sols, éluvies, eaux, etc.). Les essais écotoxicologiques fournissent en fait une évaluation intégrée de la toxicité d'une matrice, et prennent également en compte l'effet possible de contaminants présents mais non analysés chimiquement, ainsi que l'effet biologique global causé par les interactions synergiques ou additives de plusieurs classes de polluants au sein d'une matrice complexe. Il est donc possible que cette ligne de preuve, ainsi que la précédente sur les biomarqueurs, donne des résultats apparemment contraires à ceux extrapolés à partir d'une caractérisation chimique. Les essais

écotoxicologiques peuvent utiliser un grand nombre d'espèces à tester appartenant à différents taxons et niveaux trophiques (des bactéries aux poissons, des décomposeurs aux consommateurs secondaires), pour lesquels il existe des méthodologies largement normalisées et validées. Les essais écotoxicologiques peuvent être réalisés sur des organismes (*in vivo*) ou sur des portions isolées (*in vitro*) telles que des cellules, des protéines ou des enzymes, des organites ; ils peuvent également tester la toxicité de diverses matrices (sédiments en tant que tels, éluviats ou extraits) et fournir des indications sur les effets aigus ou chroniques. De nombreux paramètres sont mesurés, de la variation des activités enzymatiques aux changements comportementaux, en passant par l'apparition d'effets génotoxiques, l'altération de la croissance, du potentiel reproductif et du développement, l'inhibition de la bioluminescence et la mortalité. En fonction de l'espèce utilisée, du critère biologique, de la matrice testée et du temps d'exposition, la pertinence écologique et la sensibilité d'un essai pour mettre en évidence un éventuel danger de toxicité changent, tout comme le niveau d'extrapolation requis pour prédire les effets au niveau de la population ou de la communauté.

C'est précisément en raison de cette grande polyvalence et variabilité des tests écotoxicologiques que tous les protocoles nationaux et internationaux considèrent que l'utilisation d'un seul test n'est absolument pas fiable, mais qu'il est au contraire essentiel d'appliquer des batteries de tests qui envisagent simultanément des espèces représentatives de différents groupes et positions trophiques, la mesure de paramètres biologiques aigus et chroniques ayant une signification toxicologique différente, et différentes voies d'exposition (par exemple, sédiment tel quel, éluviat, eau interstitielle).

Une description des critères à suivre pour choisir les batteries d'essais les plus appropriées pour tester la toxicité des eaux et des sédiments côtiers, le choix des matrices, des espèces et des paramètres disponibles, ainsi que certains critères pour interpréter les résultats de toxicité, ont été récemment résumés dans le décret législatif 173/2016" Règlement contenant les modalités et les critères techniques pour l'autorisation de l'immersion en mer des matériaux d'excavation des fonds marins (décret législatif 173/16). Dans ce règlement, une référence technique scientifique sur l'application des méthodologies écotoxicologiques dans le contexte des environnements portuaires est proposée, dans le but de proposer un ensemble

de batteries de tests biologiques, à développer par le biais de critères d'intégration spécifiques pondérés qui permettent une évaluation globale des résultats obtenus de tous les tests de la batterie.

Outre l'application de batteries d'essais écotoxicologiques, il est fondamental, pour une analyse des risques écologiques, de prendre également en compte les éléments de preuve qui se réfèrent aux altérations des niveaux biologiques supérieurs, tels que les populations naturelles qui contrôlent de nombreux processus de l'écosystème. Un faisceau d'indices très important est celui qui concerne les communautés benthiques. L'analyse de la structure et de la dynamique des populations benthiques, qui sont directement exposées à l'effet des contaminants, permet de mettre en évidence si, et dans quelle mesure, les contaminants présents dans un environnement déterminent des modifications dans le fonctionnement des écosystèmes ; l'analyse des populations benthiques dans les sédiments représente un élément essentiel de conjonction entre les évaluations chimiques et écotoxicologiques, relatives à la présence et à l'effet biologique des contaminants, et les conséquences écologiques en termes d'altération des processus et des fonctions des écosystèmes sédimentaires.

Un écosystème qui fonctionne bien est à la base de la production de biens et de services, qui sont essentiels pour garantir ses caractéristiques de résistance et de résilience, et en fin de compte le bien-être de l'homme. Afin d'évaluer si et dans quelle mesure les contaminants présents dans un environnement provoquent des changements dans le fonctionnement de l'écosystème, il est possible d'analyser la structure et la dynamique des populations benthiques qui sont directement exposées à l'effet des contaminants présents dans les sédiments. En raison de leur importance en tant qu'éléments d'évaluation de la qualité de l'environnement, les populations benthiques ont été récemment introduites dans les directives européennes (directive-cadre sur l'eau 2000/60/CE, directive-cadre "Stratégie pour le milieu marin" /CE) comme un élément essentiel de l'évaluation de la qualité et de l'état écologique des écosystèmes aquatiques.

2. Description des modules et des algorithmes de calcul pour le traitement des données relatives aux éléments de preuve (LOE) proposés pour l'analyse des risques écologiques.

Dans le logiciel d'application pour le calcul de l'indice intégré, des algorithmes et des organigrammes spécifiques ont été développés qui, sur la base d'objectifs précis et d'hypothèses de jugement d'experts, permettent l'application de critères d'intégration pondérés à de grands ensembles de données obtenus à partir de 6 lignes de preuve : caractérisation chimique des sédiments (LOE-1), caractérisation chimique de l'eau (LOE-2), biodisponibilité des contaminants (LOE-3), effets sublétaux mesurés par des biomarqueurs (LOE-4), effets toxiques au niveau des organismes mesurés par des batteries de tests (LOE-5) et analyse des communautés benthiques (LOE-6). Chaque ligne de preuve a été développée au sein d'un module unique capable de fournir pour chaque type de données, à la fois un indice de danger quantitatif (QD, Quotient de danger), et un jugement synthétique du niveau de danger (divisé en 5 classes, d'absent à très élevé). Ces procédures de calcul ont été développées au sein d'un logiciel dédié qui, malgré le traitement de données complexes en indices synthétiques, conserve néanmoins des informations d'une grande importance et d'une valeur scientifique utile pour toute investigation ultérieure.

Le modèle contient ensuite un module final de traitement du WOE qui intègre les différents éléments de preuve, en leur attribuant un poids différent en fonction de leur pertinence pour les besoins de l'enquête, afin de parvenir à une évaluation quantitative et qualitative du risque. L'intégration finale du WOE est flexible, prévoyant qu'un nombre variable de lignes de preuve peut être intégré, et que l'utilisateur peut modifier leur "poids" en fonction des hypothèses de risque et des caractéristiques spécifiques du site de l'enquête.

Les principaux critères scientifiques et les organigrammes correspondants développés pour les 6 LOE du modèle sont résumés ci-dessous.

2.1 LOE-1 (Caractérisation chimique des sédiments)

En ce qui concerne le module de caractérisation chimique des sédiments (LOE-1), le modèle comprend une première partie avec les informations générales du site, la classification éventuelle de la carotte et/ou des niveaux dans les situations où ces types d'échantillonnage sont prévus. La saisie des données d'analyse chimique comprend une liste exhaustive d'analytes, notamment des métaux, des hydrocarbures volatils, des hydrocarbures aliphatiques, des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des polychlorobiphényles (PCB), des pesticides et des composés organohalogénés, des composés organostanniques, des dioxines et des composés de type dioxine, des solvants aromatiques, des solvants halogénés, des nitroaromatiques, des phénols, des amines aromatiques, etc. (Tableau 1).

Ces composés se sont vus attribuer un "poids" différent (entre 1 et 1,3) en fonction de leur présence dans la liste des substances "prioritaires" ou "dangereuses et prioritaires" identifiées par la directive 2008/105/CE. Le poids différent attribué aux différents composés a pour but de donner plus de pertinence, dans le cadre d'une analyse de risque, à la variation des polluants qui se caractérisent par une plus grande toxicité.

Les valeurs mesurées sont ensuite rapportées à une série de références, tant normatives que scientifiques, parmi les plus utilisées au niveau national, européen ou international, applicables aux sédiments : L1 et L2 du décret législatif 173/2016 ; SQS (décret législatif 172/2015) ; TEL, Threshold Effect Level, et PEL, Probable Effect Level (MacDonald, 1994 ; Long *et al*, 1995) ; ERL (Effect Range Low) et ERM (Effect Range Median) (Long & Morgan ; 1991 ; Long *et al*, 1995) ; COLONNE A et COLONNE B du tableau 1 de l'annexe 5 de la partie IV, titre 5 du décret législatif 152/2006 ; SL et SQHV (ANZECC 2009).

Les caractéristiques de ces références sont :

- L1 du décret législatif 173/2016 concernant les mouvements des fonds marins. Il représente, pour chaque paramètre, le niveau chimique, proche des valeurs de fond naturelles, auquel les effets toxiques sur les communautés aquatiques sont très peu probables et qui serait donc compatible avec toutes les options de gestion dans le cas d'un déplacement de sédiments.

- L2 du décret législatif 173/2016 relatif à la manipulation des fonds marins. Elle constitue le niveau de concentration de contaminants susceptible d'entraîner des effets toxiques néfastes pour les communautés aquatiques.

- Le décret législatif 172/2015 transpose les normes de qualité des sédiments (SQS) par rapport à la directive européenne 2000/60/CE. Il représente la norme de référence qualitative à atteindre pour parvenir au "bon état" écologique selon les critères de la directive-cadre communautaire.

- Le TEL (Threshold Effect Level) représente la limite supérieure de la gamme de concentrations de contaminants à laquelle il n'y a pas d'effets biologiques négatifs. Élaboré par le Florida Department of Environmental Protection (FDEP, 1994), il est calculé comme la moyenne géométrique entre le 15e percentile d'un ensemble de données toxiques et le 50e percentile d'un ensemble de données non toxiques (Mac Donald, 1994), en utilisant la base de données élaborée par Long *et al.* (1995).

- Le PEL (Probable Effect Level) représente la limite inférieure de la gamme de concentration du contaminant à laquelle des effets biologiques indésirables se produisent fréquemment ou toujours. Élaboré par le Florida Department of Environmental Protection (FDEP, 1994), il est calculé comme la moyenne géométrique entre le 50e percentile de l'ensemble de données toxiques et le 85e percentile de l'ensemble de données non toxiques (Mac Donald, 1994), en utilisant la base de données élaborée par Long *et al.* (1995).

- L'ERL (Effect Range Low) est donné par le 10ème percentile d'un grand ensemble de données qui associe les concentrations chimiques observées, ou prédites par le principe de partage à l'équilibre (EqP), à l'apparition d'effets biologiques (Long & Morgan ; 1991 ; Long *et al.*, 1995). Les valeurs correspondant à l'ERL indiquent les concentrations en dessous desquelles il est peu probable que des effets néfastes se produisent.

- L'ERM (Effect Range Median) est donné par le 50e percentile d'un grand ensemble de données qui associe les concentrations chimiques observées, ou prédites par le principe de partage de l'équilibre (EqP), à l'apparition d'effets biologiques (Long & Morgan ; 1991 ; Long *et al.*, 1995). Les valeurs correspondant à l'ERM sont représentatives des concentrations au-dessus desquelles des effets indésirables se produisent fréquemment.

- COLONNE A Tableau 1 Annexe 5 de la partie IV titre 5 du décret législatif 152/2006.

Présente les niveaux de contaminants maximums autorisés pour les sols utilisés pour les espaces verts résidentiels ou publics. Les critères avec lesquels il a été développé ne sont pas spécifiés dans la législation et il est souvent considéré comme une référence également pour les sédiments marins dans les sites d'assainissement.

- COLONNE B Tableau 1 Annexe 5 de la partie IV titre 5 du décret législatif 152/2006. Il présente les niveaux maximums de contaminants autorisés pour les sols à usage industriel. Les critères avec lesquels il a été développé ne sont pas spécifiés dans la législation et il est souvent considéré comme une référence également pour les sédiments marins dans les sites d'assainissement.

- SL (ANZECC 2009) indique les niveaux de dépistage adoptés par le Conseil de conservation de l'environnement d'Australie et de Nouvelle-Zélande ; les valeurs inférieures au 95e percentile sont considérées comme des niveaux de référence, au-delà desquels une étude plus approfondie des caractéristiques géochimiques de la zone est nécessaire.

- SQHV (ANZECC 2009) indique les valeurs maximales (High Values) qui ne devraient pas être atteintes dans les sédiments. Ces valeurs sont en grande partie obtenues à partir de la base de données de Long *et al.* (1995) avec quelques modifications.

Ces références peuvent être mises à jour très facilement, et le modèle permet également à l'utilisateur de saisir manuellement des "références" supplémentaires spécifiques au site, créées en fonction des objectifs ou des caractéristiques de l'enquête.

Tableau 1 - Liste des paramètres chimiques attendus pour les sédiments et les organismes
(LOE-1 et LOE-3)

CHEMICALS	Weighting	CAS number			
1 Ag	1	7440-22-4	59 PCB-81	1	70362-50-4
2 Al	1	7429-90-5	60 PCB-101	1	37680-73-2
3 As	1	7784-42-1	61 PCB-118	1	31508-00-6
4 Ba	1	81-25-4	62 PCB-126	1	57465-28-8
5 Be	1	7440-41-7	63 PCB-128	1	38380-07-3
6 Cd	1,3	7440-43-9	64 PCB-138	1	35065-28-2
7 Co	1	7440-48-4	65 PCB-153	1	35065-27-1
8 Cr total	1	7440-47-3	66 PCB-156	1	38380-08-4
9 Cr VI	1	n.a.	67 PCB-169	1	32774-16-6
10 Cu	1	7440-50-8	68 PCB-180	1	35065-29-3
11 Fe	1	8053-60-9	69 Σ PCB	1	n.a.
12 Hg	1,3	7439-97-6	70 Alachlor	1,1	15972-60-8
13 Me-Hg	1,3	n.a.	71 Aldrin	1	309-00-2
14 Mn	1	8075-39-6	72 Atrazine	1,1	1912-24-9
15 Ni	1,1	7440-02-0	73 α -Hexachlorocyclohexane	1,3	319-84-6
16 Pb	1,1	7439-92-1	74 β -Hexachlorocyclohexane	1,3	319-85-7
17 Sb	1	7803-52-3	75 γ -Hexachlorocyclohexane	1,3	581-89-9
18 Se	1	95788-45-7	76 total Hexachlorocyclohexane	1,3	n.a.
19 Sn	1	7440-31-5	77 Chlordane	1	57-74-9
20 Tl	1	137322-20-4	78 Σ DDD	1	72-54-8 + 53-19-0
21 V	1	7440-62-2	79 Σ DDE	1	82413-20-5 + 72-55-9
22 Zn	1	9029-97-4	80 Σ DDT	1	50-29-3 + 789-02-6
23 Cyanides	1	n.a.	81 Σ DDD_DDE_DDT	1	n.a.
24 Fluorides	1	n.a.	82 Dieldrin	1	60-57-1
25 Total hydrocarbons	1	n.a.	83 Endrin	1	72-20-8
26 Hydrocarbons (C \leq 12)	1	n.a.	84 Endosulfan	1,3	115-29-7
27 Hydrocarbons (C $>$ 12)	1	n.a.	85 Methoxychlor	1	72-43-5
28 Acenaphthene $^{\circ}$ +	1	83-32-9	86 Eptachlor epoxide	1	1024-57-3
29 Acenaphthylene $^{\circ}$ +	1	208-96-8	87 Chlorfenvinphos	1,1	470-90-6
30 Anthracene $^{\circ}$ +	1,3	120-12-7	88 Chlorpyriphos	1,1	2921-88-2
31 Benzo(a)anthracene * § +	1	56-55-3	89 Diuron	1,1	330-54-1
32 Benzo(a)pyrene * § +	1,3	50-32-8	90 Hexachlorobutadiene	1,3	87-68-3
33 Benzo(b)fluoranthene * +	1,3	205-99-2	91 Monobutyltin compounds (Sn)	1	n.a.
34 Benzo(k)fluoranthene * +	1,3	207-08-9	92 Dibutyltin compounds (Sn)	1	1002-53-5
35 Benzo(g,h,i)perylene * +	1,3	191-24-2	93 Tributyltin compounds (Sn)	1,3	36643-28-4
36 Chrysene * § +	1	218-01-9	94 Σ organotin compounds	1,3	n.a.
37 Dibenzo(a,h)anthracene * § +	1	53-70-3	95 Σ PCDD,PCDF (TE-I)	1	n.a.
38 Fenantrene $^{\circ}$ +	1	85-01-8	96 Σ PCDD,PCDF, dioxin-like PCB (TE-I)	1	n.a.
39 Fluorene $^{\circ}$ +	1	86-73-7	97 Benzene #	1,1	71-43-2
40 Fluoranthene § +	1,1	206-44-0	98 Ethylbenzene #	1	70955-17-8
41 Indeno(1,2,3,c,d)pyrene * +	1,3	193-39-5	99 Styrene #	1	[100-42-5
42 Naphtalene $^{\circ}$ +	1,1	91-20-3	100 Toluene #	1	108-88-3
43 2-Methylnaphtalene	1	91-57-6	101 Xylene #	1	1330-20-7
44 Pyrene * § +	1	129-00-0	102 Σ aromatic (#)	1	n.a.
45 Dibenzo(a,e)pyrene	1	192-65-4	103 Pentachlorobenzene	1,3	608-93-5
46 Dibenzo(a,i)pyrene	1	189-55-9	104 Hexachlorobenzene (HCB)	1,3	118-74-1
47 Dibenzo(a,l)pyrene	1	191-30-0	105 Methylphenol	1	n.a.
48 Dibenzo(a,h)pyrene	1	189-64-0	106 Phenol	1	108-95-2
49 Σ PAH (*)	1,3	n.a.	107 2-Chlorophenol	1	95-57-8
50 Σ PAH ($^{\circ}$)	1,3	n.a.	108 2,4-Dichlorophenol	1	120-83-2
51 Σ PAH (§)	1,3	n.a.	109 2,4,6-Trichlorofenol	1	88-06-2
52 Σ PAH (+)	1,3	n.a.	110 Pentachlorofenol	1,1	87-86-5
53 Σ PAH (LMW)	1	n.a.	111 4-Nonylphenol (Nonylphenol)	1,3	104-40-5 (25154-52-3)
54 Σ PAH (HMW)	1	n.a.	112 Octylphenol	1,1	1806-26-4
55 Σ PAH (TOT)	1,3	n.a.	113 Polybromodiphenylethers (28 -47 -99 -100 -153 -154)	1,1	n.a.
56 PCB-28	1	7012-37-5	114 2-Ethylexylphthalate (DEHP)	1,1	117-81-7
57 PCB-52	1	35693-99-3	115 Radionuclides (alpha + beta)	1	n.a.
58 PCB-77	1	32598-13-3			

Le calcul du quotient de danger spécifique au module Chimie des sédiments est présenté dans la figure 1. Les principales étapes consistent à calculer pour chaque paramètre la variation par rapport à la référence, le Ratio To Reference (RTR), corrigé pour le type de contaminant (poids) (RTRw), afin de souligner l'importance des variations observées pour les contaminants les plus dangereux. Dans le calcul du quotient de danger spécifique pour la caractérisation chimique des sédiments (HQC), un RTRw moyen est calculé pour tous les paramètres dont le RTR ≤ 1 (c'est-à-dire les valeurs inférieures à la limite SQG), tandis que pour les contaminants dont le RTR > 1, les RTRw individuels sont additionnés en une somme Σ :

$$HQ_C = \frac{\sum_{j=1}^N RTR_w(j)_{RTR(j) \leq 1}}{N} + \sum_{k=1}^M RTR_w(k)_{RTR(k) > 1}$$

où N et M sont le nombre de paramètres avec RTR respectivement ≤ ou > 1, tandis que j et k sont des indices qui permettent de répéter le calcul pour N ou M fois. Avec ce calcul, selon le nombre de paramètres dépassant les références, l'ampleur du dépassement et le type de contaminant, l'indice de danger chimique cumulé (HQC) discrimine même les sédiments qui ne sont que modérément pollués (c'est-à-dire proches des valeurs de référence), augmente selon le nombre de paramètres et l'ampleur du dépassement des individus, et n'est pas diminué par l'analyse de nombreux paramètres qui ne dépassent pas.

Sur la base d'un jugement d'expert, l'indice de danger cumulé HQ_C est attribué à une classe de gravité du danger (d'absent à très élevé) identifiée par une couleur différente : ABSENT/blanc si HQ_C < 0,7 ; TRANSCURABLE/vert si 0,7 ≥ HQ_C < 1,3 ; FAIBLE/bleu clair si 1,3 ≥ HQ_C < 2,6 ; MOYEN/jaune si 2,6 ≥ HQ_C < 6,5 ; FORT/rouge si 6,5 ≥ HQ_C < 13 ; TRÈS FORT/noir si HQ_C ≥ 13. Une valeur HQ_C < 0,7 correspond à des sédiments dont la concentration moyenne en substances chimiques est inférieure à 70% des limites réglementaires respectives ; une valeur HQ_C entre 0,7 et < 1,3 indique des sédiments dont la concentration moyenne est comprise entre 70% et la valeur indiquée par les références réglementaires, et/ou au plus un paramètre parmi les non dangereux et les prioritaires (avec un poids < 1,3) qui dépasse légèrement sa limite. En revanche,

Prodotto n. T2.1.1

une valeur HQC ≥ 13 pourrait être atteinte avec des sédiments où les concentrations de 10 contaminants dangereux et prioritaires atteignent leurs limites réglementaires, ou par la présence d'un seul de ces polluants la dépassant de 10 fois..

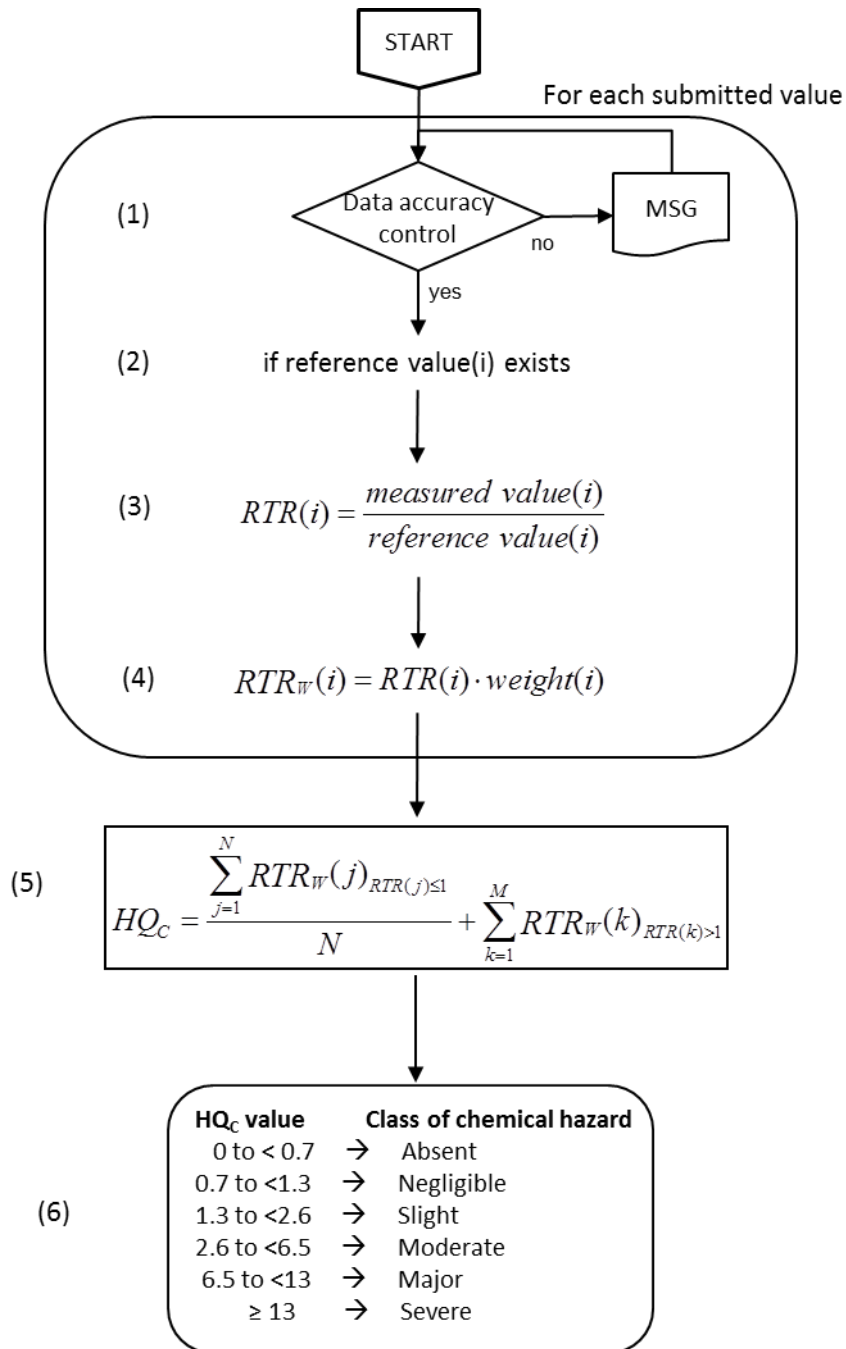


Figure 1: Organigramme du traitement des données chimiques pour la caractérisation chimique des sédiments, LOE-1.

Prodotto n. T2.1.1

En plus de la valeur HQ_c et du niveau de danger attribué, la sortie du modèle fournit, pour chaque norme considérée, des informations supplémentaires importantes telles que le % du danger global donné par le paramètre qui dépasse le plus, le nombre de paramètres non conformes, parmi ceux fournis dans la référence, parmi ceux analysés et enfin la classe de danger chimique (Figure 2).

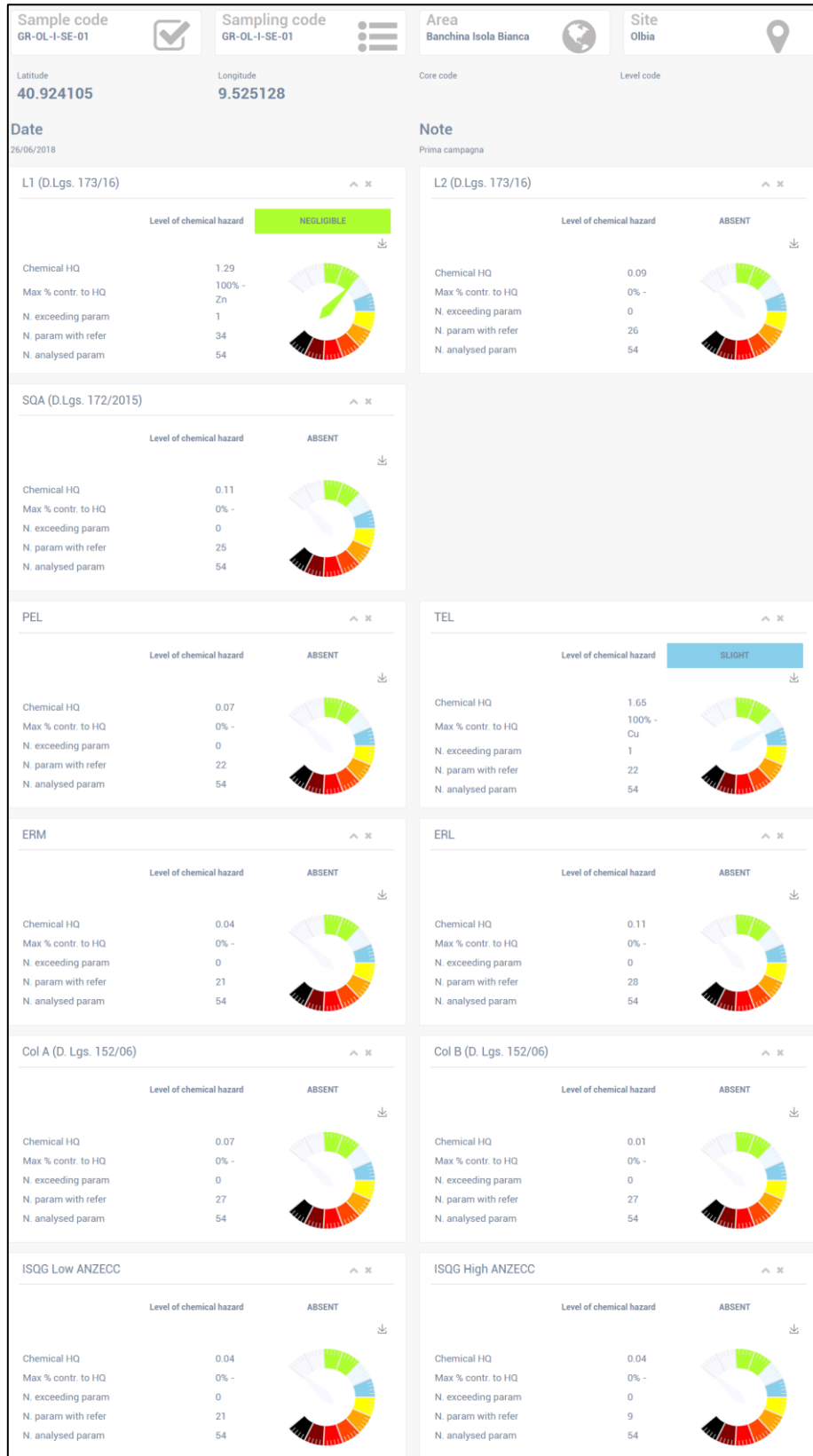


Figure 2. exemple de sortie de modèle à partir du traitement des données chimiques pour la caractérisation des sédiments, LOE-1.

2.2. LOE-2 (Caractérisation chimique de l'eau)

Le formulaire pour l'élaboration de l'indice de danger lié à la caractérisation chimique de l'eau est essentiellement basé sur le même algorithme de calcul déjà décrit pour la ligne de preuve précédente, ajusté toutefois en ce qui concerne les limites et les références normatives utilisées pour la comparaison avec les résultats de l'enquête.

Toujours dans ce module, la première partie fournit un ensemble d'informations générales sur le site et l'échantillonnage (y compris la profondeur éventuelle de l'échantillonnage), puis l'inclusion des concentrations mesurées dans les différents échantillons d'eau pour la liste des analytes rapportés dans le DM 260/2010, notamment les métaux, les hydrocarbures volatils, les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les polychlorobiphényles, les pesticides et les composés organohalogénés, les composés organostanniques, les dioxines et les composés de type dioxine, les solvants aromatiques, les solvants halogénés, les solvants nitroaromatiques, les phénols, les amines aromatiques, etc. (tableau 2).

Dans LOE-2 également, les différents composés se sont vus attribuer un "poids" entre 1 et 1,3 en fonction de leur présence dans la liste des substances prioritaires ou dangereuses et prioritaires (directive 2008/105/CE) ; ce poids attribué peut être modifié par l'utilisateur du programme, et la liste des composés chimiques à analyser peut également être facilement mise à jour en cas d'exigences spécifiques.

Le fonctionnement du module LOE-2 ne nécessite pas que tous les analytes aient été analysés : les valeurs mesurées sont alors comparées aux références normatives des normes de qualité environnementale (NQE) du DM 260 de 2010 (Tableau 2).

Tableau 2. Liste des paramètres chimiques attendus pour la colonne d'eau, LOE-2.

CHEMICALS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	SQA	Weighting			
1 As	10	1	57 Diclorvos	0,01	1
2 Cd 1	0,08	1,3	58 Dimetoato	0,5	1
3 Cd 2	0,08	1,3	59 Diuron	0,2	1,1
4 Cd 3	0,09	1,3	60 Endosulfan	0,005	1,3
5 Cd 4	0,15	1,3	61 Eptaclor	0,005	1
6 Cd 5	0,25	1,3	62 Esaclorobenzene (HCB)	0,005	1,3
7 Cd		1,3	63 Esaclorobutadiene	0,05	1,3
8 Cr totale		1	64 Esaclorocicloesano	0,02	1,3
9 Hg	0,03	1,3	65 Fenitrotion	0,01	1
10 Ni	20	1,1	66 Fention	0,01	1
11 Pb	7,2	1,1	67 Fluorantene	0,1	1,1
12 1,1,1 Tricloroetano	10	1,1	68 Isoproturon	0,3	1,1
13 1,2 dichloroethane	10	1,1	69 Linuron	0,5	1
14 1,2 dichloromethane	20	1,1	70 Malation	0,01	1
15 1,2 Diclorobenzene	2	1	71 MCPA	0,5	1
16 1,3 Diclorobenzene	2	1	72 Mecoprop	0,5	1
17 1,4 Diclorobenzene	2	1	73 Metamidofos	0,5	1
18 1-Cloro-2-nitrobenzene	1	1	74 Mevinfos	0,01	1
19 1-Cloro-3-nitrobenzene	1	1	75 Naftalene	2,4	1,1
20 1-Cloro-4-nitrobenzene	1	1	76 Octilfenolo	0,1	1,1
21 2 Cloroanilina	1	1	77 Onetoato	0,5	1
22 2,4 D	0,5	1	78 Ossidemeton-metile	0,5	1
23 2,4,5 T	0,5	1	79 Paration etile	0,01	1
24 2,4,5-Triclorofenolo	1	1	80 Paration metile	0,01	1
25 2,4,6-Triclorofenolo	1	1	81 PCB-101	0,1	1
26 2,4-Diclorofenolo	1	1	82 PCB-118	0,1	1
27 2-Clorofenolo	4	1	83 PCB-126	0,1	1
28 2-Clorotoluene	1	1	84 PCB-128	0,1	1
29 3 Cloroanilina	2	1	85 PCB-138	0,1	1
30 3,4-Dicloroanilina	0,5	1	86 PCB-153	0,1	1
31 3-Clorofenolo	2	1	87 PCB-156	0,1	1
32 3-Clorotoluene	1	1	88 PCB-169	0,1	1
33 4 Cloroanilina	1	1	89 PCB-180	0,1	1
34 4-Clorofenolo	2	1	90 PCB-28	0,1	1
35 4-Clorotoluene	1	1	91 PCB-52	0,1	1
36 4-Nonilfenolo (Nonilfenolo)	0,3	1,3	92 PCB-77	0,1	1
37 Alachlor	0,3	1,1	93 PCB-81	0,1	1
38 Alcani, C10-C13, cloro	0,4	1,3	94 Pentaclorobenzene	0,007	1,3
39 Aldrin		1	95 Pentaclorofenolo	0,4	1,1
40 Antracene	0,1	1,3	96 pp DDT	0,01	1,1
41 Atrazina	0,6	1,1	97 S DDT	0,025	1,1
42 Azinfos etile	0,01	1	98 S PCB	1	1
43 Azinfos metile	0,01	1	99 S PCDD,PCDF,PCB diossina simili (TE-I)	0,1	1
44 Bentazone	0,5	1	100 Simazina	1	1,1
45 Benzene	10	1,1	101 TBT (Sn)	0,0002	1,3
46 Benzo(a)pirene	0,05	1,3	102 Terbutilazina	0,5	1
47 Benzo(b)fluorantene + Benzo(k)fluorantene	0,03	1,3	103 Tetracloroetilene	10	1,1
48 Benzo(g,h,i)perilene + Indeno(1,2,3,c,d)pirene	0,002	1,3	104 Tetracloruro di C	12	1,1
49 Brominated diphenyl ether	0,0005	1,1	105 Toluene	5	1
50 Chlorfenvinphos	0,1	1,1	106 Triclorobenzeni	0,4	1,1
51 Chlorpyriphos	0,03	1,1	107 Tricloroetilene	10	1,1
52 ciclodiene + Aldrin + Dieldrin + Endrin + Isodrin	0,01	1,1	108 Triclorometano	2,5	1,1
53 Clorobenzene	3	1	109 Trifenilstagno	0,0002	1
54 Cloronitrotolueni	1	1	110 Triflularin	0,03	1,1
55 Demeton	0,1	1	111 Xilene	5	1
56 Di(2-ethylhexyl)phthalate	1,3	1,1			

Le calcul du quotient de danger spécifique pour la caractérisation chimique de l'eau est basé sur les mêmes critères, hypothèses et avis d'experts que ceux utilisés pour les sédiments (figure 3). Pour chaque paramètre, l'écart par rapport à la référence, le ratio par rapport à la référence (RTR), est calculé puis corrigé en fonction du type de contaminant (poids) (RTRw) afin de souligner l'importance des contaminants les plus dangereux. Le quotient de danger spécifique à cette LOE calcule un RTRw moyen pour tous les paramètres dont le RTR est ≤ 1 (c'est-à-dire des valeurs inférieures aux NQE), tandis que pour les contaminants dont le RTR est > 1 , les RTRw individuels sont additionnés en une somme Σ :

$$HQ_{Cr} = \frac{\sum_{j=1}^N RTR_w(j)_{RTR(j) \leq 1}}{N} + \sum_{k=1}^M RTR_w(k)_{RTR(k) > 1}$$

où N et M sont le nombre de paramètres avec $RTR \leq$ ou > 1 respectivement, tandis que j et k sont des indices qui permettent de répéter le calcul pour N ou M fois. Avec ce calcul, en fonction du nombre de paramètres qui dépassent les références de l'ampleur du dépassement et du type de contaminant, l'indice de danger chimique de l'eau (HQC') discrimine même les échantillons d'eau modérément pollués (c'est-à-dire proches des valeurs de référence), augmente en fonction du nombre de paramètres et de l'ampleur du dépassement de l'individu, n'est pas abaissé par l'analyse de nombreux paramètres qui ne dépassent pas.

Le D.M. 260/2010, identifie un indice trophique, le TRIX, comme un élément de qualité physico-chimique à l'appui des éléments de qualité biologique (EQB), afin qu'il puisse contribuer à la classification de l'état écologique des eaux marines et côtières. L'indice d'état trophique (TRIX) dont la valeur numérique est donnée par l'intégration de variables telles que l'oxygène dissous (OD%), la chlorophylle "a" (Chla), le phosphore total (P) et l'azote (N) :

$$TRIX = (\text{Log}[\text{Chla} \times |\text{OD}\%| \times \text{N} \times \text{P}] - [-1,5])/1,2$$

L'indice trophique TRIX est attribué à un état trophique allant de élevé à faible :

Haut si $TRIX < 4$;

Bon si $4 \geq TRIX < 5$

Moyen si $5 \geq TRIX < 6$;

MEDIUM/jaune si $2.6 \geq HQ_C < 6.5$;

HAUT/ROUGE si $6.5 \geq HQ_C < 13$;

TRES HAUT/Noir si $HQ_C \geq 13$.

Les indications de l'indice TRIX ne sont pas utilisées dans l'intégration finale mais, si elles sont analysées, elles soutiennent l'indice de danger chimique de l'eau (HQ_C).

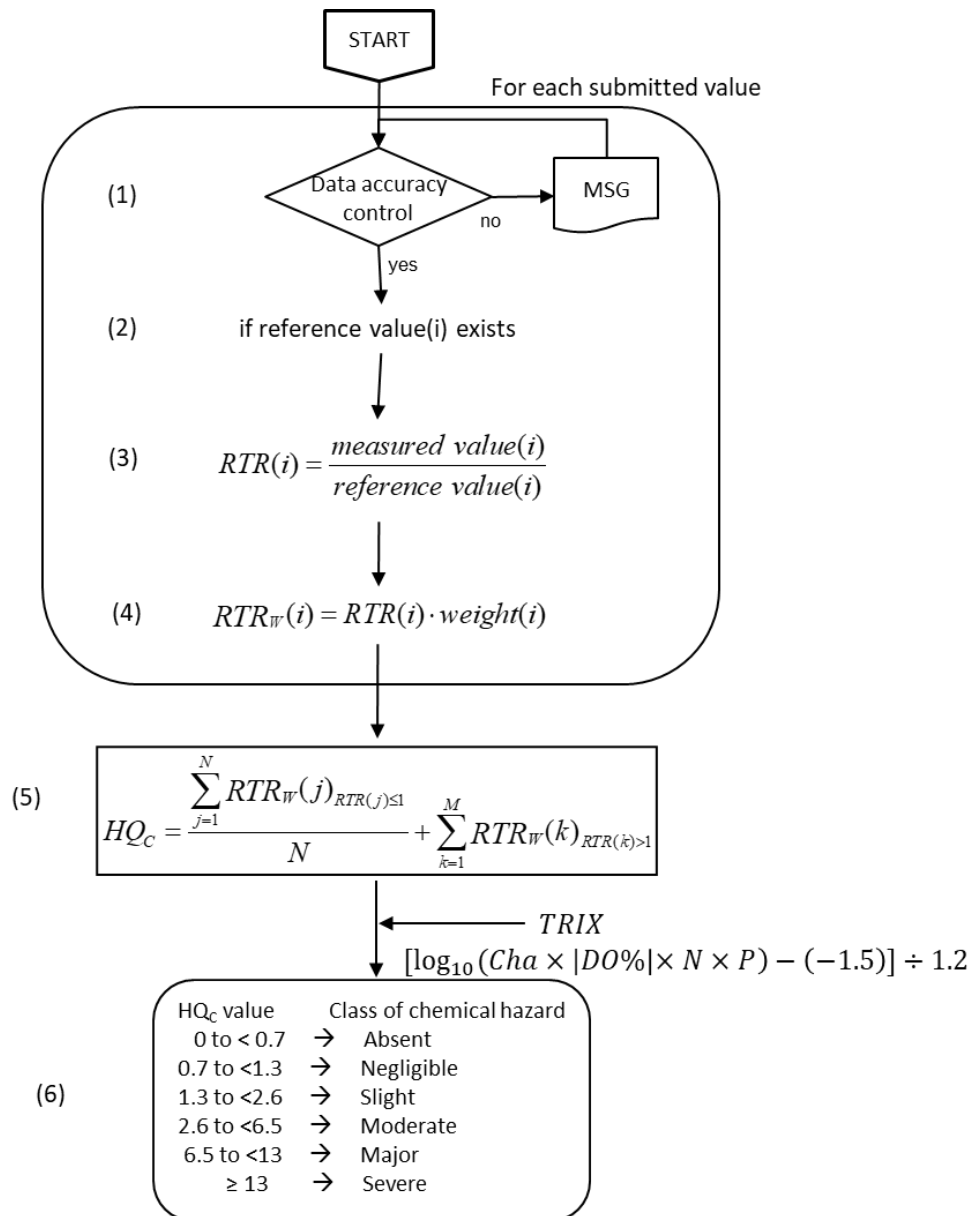


Figure 3: Organigramme du traitement des données chimiques pour la caractérisation chimique de la colonne d'eau, LOE-2.

Sur la base d'un jugement d'expert, l'indice de danger chimique de l'eau est attribué à une classe de danger chimique (d'absent à très élevé) ; la sortie du modèle fournit, en plus de la valeur HQC' et du niveau de danger respectif attribué, des informations supplémentaires importantes telles que la distribution en pourcentage des paramètres analysés dans les 5 classes de danger (Figure 4).

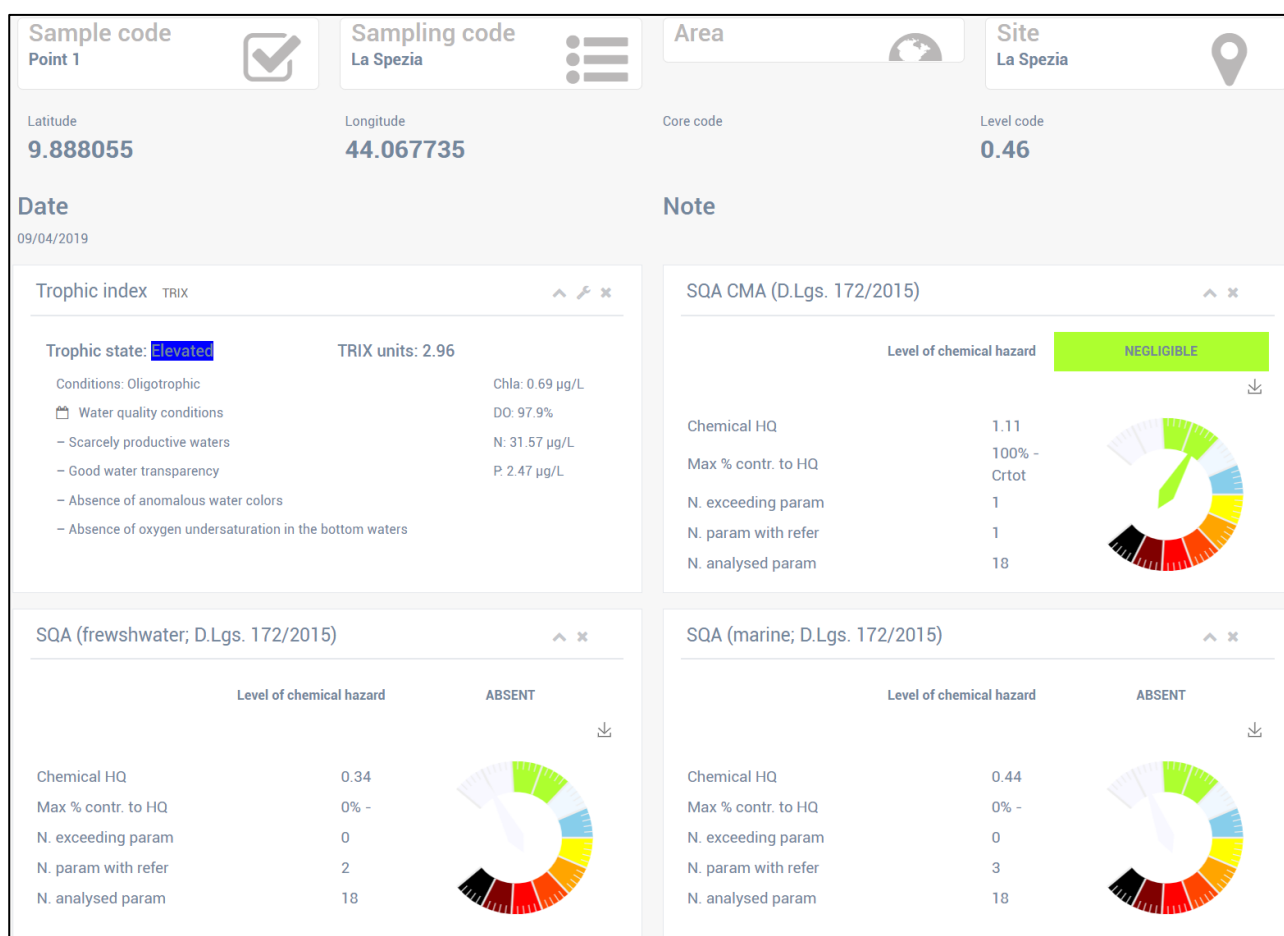


Figure 4. exemple de sortie du modèle à partir du traitement des données chimiques pour la caractérisation de la colonne d'eau, LOE-2.

2.3. LOE-3 (biodisponibilità)

Le module Traitement des données de biodisponibilité (LOE-3) est fondamental car il permet d'établir le danger associé au transfert éventuel vers le compartiment biotique des contaminants associés aux sédiments et/ou présents dans l'eau.

Dans ce module, après les mêmes informations générales sur le site d'investigation et sur l'échantillonnage effectué, il est possible de sélectionner les espèces sur lesquelles la biodisponibilité a été testée, en choisissant dans une liste de plusieurs vertébrés ou invertébrés parmi ceux les plus utilisés comme bioindicateurs (*Mytilus galloprovincialis*, *Anguilla anguilla*, *Crassostrea gigas*, *Tapes sp*, *Chamelea gallina*, *Mullus sp.*, *Hediste diversicolor*, *Scorpaena spp*, *Zosterisessor ophiocephalus*, *Gobius sp*, *Sparus aurata*, *Dicentrarchus labrax*, *Hexaplex spp*, etc.) ; il est ensuite nécessaire d'indiquer le(s) tissu(s) dans le(s)quel(s) l'analyse est effectuée (par exemple, foie/glande digestive, branchies, tissus entiers), et la condition expérimentale qui peut inclure l'analyse d'organismes collectés dans des conditions naturelles, d'organismes transplantés ou d'organismes exposés en laboratoire aux matrices dont la biodisponibilité doit être testée (par exemple, sédiments, éluviats ou eau). L'élaboration du modèle permet d'évaluer séparément la biodisponibilité dans les différents tissus d'une même espèce (important, par exemple, pour effectuer des évaluations de la voie d'exposition), mais aussi de procéder à des intégrations ultérieures qui résument le risque de biodisponibilité pour une espèce ou, si plusieurs types d'organismes ont été analysés, pour un site ou une zone d'échantillonnage.

Les paramètres chimiques sur lesquels la biodisponibilité est testée sont ceux déjà considérés dans le module sur la caractérisation chimique des sédiments (Tableau 1). Le calcul de l'indice de danger de biodisponibilité (HQBA) est reporté dans la figure 5. Pour chaque paramètre, on calcule la variation de la concentration mesurée dans les tissus des organismes étudiés par rapport aux témoins (RTR), corrigée à nouveau (RTRw) en fonction du type de contaminant et de la signification statistique des différences en appliquant la "fonction z". Cette fonction ne change pas la valeur de RTR si $p < 0,05$, mais la réduit jusqu'à 50% si $0,05 < p < 0,06$, puis à 20% si $p > 0,06$; cette correction, bien qu'arbitraire, n'empêche pas de considérer les contaminants qui ont été accumulés avec une grande variabilité, mais réduit leur contribution quantitative dans le calcul final de l'indice de danger. Le modèle exige que, pour chaque analyte

mesuré dans un échantillon, soient indiqués la valeur moyenne, l'écart-type et le nombre de répétitions (au moins 3 pour ne pas porter préjudice à la comparaison statistique) : toutefois, si pour des raisons contingentes à l'enquête, le nombre de répétitions est inférieur à 3, l'opérateur peut décider d'appliquer un facteur de correction (0,2 ou 0,5 ou 1,0), afin de réduire la valeur des résultats qui n'ont pas été testés statistiquement.

En fonction de la valeur RTRw obtenue, chaque contaminant analysé est affecté à l'une des 5 classes de danger (d'absent à très élevé), sur la base d'un jugement d'expert qui tient compte de la variabilité naturelle des concentrations tissulaires des contaminants dans les organismes : le paramètre est affecté aux classes Absent ou Faible si RTRw est < 2,6 (c'est-à-dire une augmentation de moins de 2 fois des concentrations dans les tissus par rapport à ce qui a été mesuré chez les témoins pour une substance non dangereuse et prioritaire), Moyen si $2,6 \leq RTRw < 6,5$, Élevé si $6,5 \leq RTRw < 13$, et Très élevé si $RTRw \geq 13$ (par exemple, une augmentation de 10 fois pour un composé dangereux et prioritaire).

Le calcul de l'indice de danger de biodisponibilité cumulée (HQBA) ne tient pas compte des paramètres dont le RTRw est <1,3 (effet absent), établit la moyenne de ceux dont le RTRw est compris entre 1,3 et 2,6 (effet faible) et additionne (Σ) tous les RTRw >2,6 (paramètres à effet moyen, élevé et très élevé) :

$$HQ_{BA} = \frac{\sum_{n=1}^j RTR_W(n)_{1,3 \leq RTR_W < 2,6}}{j} + \sum_{n=1}^k RTR_W(n)_{RTR_W \geq 2,6}$$

Le niveau de danger de biodisponibilité globale est ensuite calculé en fonction de la distribution en % des paramètres dans les différentes classes selon la formule:

$$(\% param_{RTR < 1,3}) + (\% param_{1,3 \geq RTR < 2,6} \cdot 3) + (\% param_{2,6 \geq RTR < 6,5} \cdot 9) + (\% param_{6,5 \geq RTR < 13} \cdot 27) + (\% param_{RTR > 13} \cdot 81)$$

La valeur obtenue peut aller d'un minimum de 100 (correspondant au niveau de danger de biodisponibilité Absent, lorsque 100% des paramètres analysés ont été attribués à la première classe d'effet) à 8100 (niveau de danger de biodisponibilité Très élevé, lorsque 100%

Prodotto n. T2.1.1

des paramètres analysés ont été attribués à la dernière classe d'effet). Le choix d'un facteur multiplicatif cubique augmente considérablement l'importance des paramètres qui appartiennent aux classes d'effet les plus élevées, et a été validé après de nombreuses simulations pour s'assurer qu'un niveau élevé de danger, qui pourrait résulter d'un seul paramètre fortement accumulé dans les organismes, n'est pas masqué par l'analyse simultanée d'autres composés qui appartiennent plutôt aux classes d'effet inférieures. La sortie du modèle résume le nombre de paramètres attribués à chacune des 5 classes d'effets, la valeur de l'indice de risque de biodisponibilité et la classe de risque attribuée (figure 6).

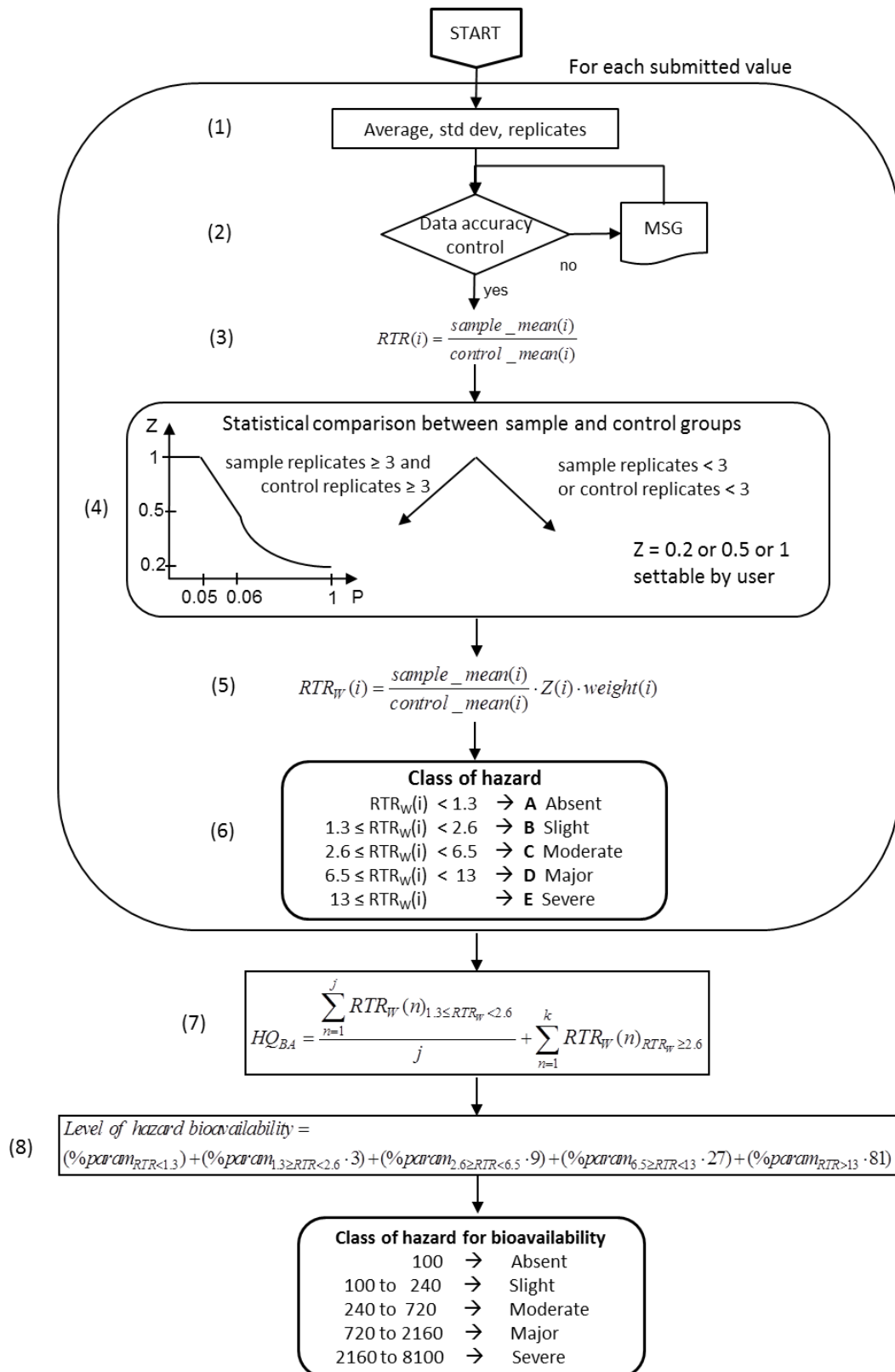


Figure 5: Organigramme du traitement des données de biodisponibilité, LOE-3.

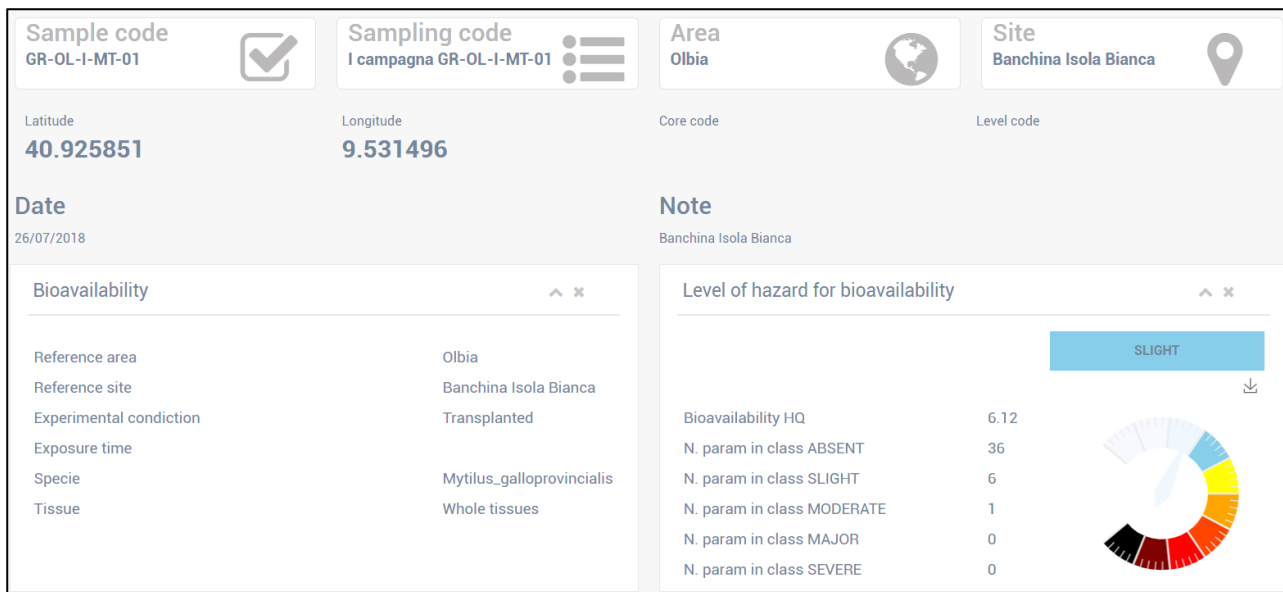


Figure 6: Exemple de sortie de modèle issue du traitement des données de biodisponibilité, LOE-3.

2.4. LOE-4 (Biomarqueur)

I biomarkers rappresentano le prime alterazioni evidenziabili a livello molecolare e cellulare come risposta ai contaminanti ambientali ed hanno dunque un potenziale applicativo notevole per evidenziare precocemente l'insorgenza, o l'eventuale regressione di una condizione di disturbo chimico, per valutare l'impatto biologico e prevedere gli effetti nel medio-lungo termine quando si voglia monitorare una attività antropica o controllare l'efficienza di operazioni di recupero ambientale.

Nel modulo sulle analisi dei Biomarkers (LOE-4), dopo le informazioni generali sul sito di indagine e sul campionamento, viene selezionata la specie tra quelle già riportate nel modulo precedente e previste come bioindicatori anche per l'analisi della biodisponibilità (Tabella 3); viene quindi indicata la condizione sperimentale (organismi naturali, trapiantati, o esposti in condizioni di laboratorio) dei campioni ed i tessuti sui cui è stata effettuata l'analisi dei biomarker.

I biomarker contemplati nel modello rientrano all'interno di un'ampia lista di risposte (Tabella 3a-b) comunemente utilizzate e validate dalla comunità scientifica internazionale (Cajaraville *et al.*, 2000; Goksøyr, 2006; Koehler, 2004; Moore *et al.*, 2006; Regoli, 2000; Regoli *et al.*, 2002; Viarengo *et al.*, 2007). A ciascun biomarker è associato un peso da 1 a 3, a seconda della rilevanza biologica della risposta nel tessuto indagato e del livello di conoscenze sui meccanismi coinvolti; inoltre, per ciascun biomarker, in funzione della specie e del tessuto analizzati, è stabilita anche una soglia di variazione biologicamente significativa (*Threshold*) che tiene conto delle possibili risposte bi-fasiche di certi biomarkers che possono essere sia indotti che inibiti (Tabella 3a-b). Il modello non impone l'analisi di specifici biomarkers, lasciando la possibilità di scegliere tra le risposte ritenute più adeguate in funzione dell'indagine o dell'esperienza di chi la conduce; tuttavia, per garantire un approccio multi-biomarkers, è richiesto come requisito minimo per calcolare l'indice cumulativo di pericolo per i biomarkers HQ_{BM} , che il peso totale delle risposte analizzate non sia inferiore a 6, con almeno 3 biomarkers di peso ≥ 1.2 .

Les biomarqueurs représentent les premières altérations qui peuvent être mises en évidence au niveau moléculaire et cellulaire en réponse aux contaminants environnementaux.

Ils ont donc un potentiel d'application considérable pour mettre en évidence l'apparition précoce ou la régression éventuelle d'un état de perturbation chimique, pour évaluer l'impact biologique et prédire les effets à moyen et long terme lorsqu'on veut surveiller une activité anthropique ou contrôler l'efficacité des opérations de récupération environnementale.

Dans le module Analyse des biomarqueurs (LOE-4), après les informations générales sur le site d'investigation et sur l'échantillonnage, l'espèce est sélectionnée parmi celles déjà signalées dans le module précédent et envisagées comme bioindicateurs également pour l'analyse de la biodisponibilité (tableau 3) ; la condition expérimentale (organismes naturels, transplantés ou exposés dans des conditions de laboratoire) des échantillons et les tissus sur lesquels l'analyse des biomarqueurs a été effectuée sont ensuite indiqués.

Les biomarqueurs envisagés dans le modèle font partie d'une liste étendue de réponses (tableau 3a-b) couramment utilisées et validées par la communauté scientifique internationale (Cajaraville *et al.*, 2000 ; Goksøyr, 2006 ; Koehler, 2004 ; Moore *et al.*, 2006 ; Regoli, 2000 ; Regoli *et al.*, 2002 ; Viarengo *et al.*, 2007). Chaque biomarqueur est associé à un poids de 1 à 3, en fonction de la pertinence biologique de la réponse dans le tissu étudié et du niveau de connaissance des mécanismes impliqués ; de plus, pour chaque biomarqueur, en fonction de l'espèce et du tissu analysé, un seuil de variation biologiquement significatif est également établi (Seuil) qui tient compte des possibles réponses biphasiques de certains biomarqueurs qui peuvent être à la fois induits et inhibés (Tableau 3a-b). Le modèle n'impose pas l'analyse de biomarqueurs spécifiques, laissant la possibilité de choisir parmi les réponses jugées les plus appropriées en fonction de l'enquête ou de l'expérience de ceux qui la mènent ; toutefois, pour garantir une approche multi-biomarqueurs, il est exigé au minimum, pour calculer l'indice de risque cumulatif des biomarqueurs HQ_{BM} , que le poids total des réponses analysées ne soit pas inférieur à 6, avec au moins 3 biomarqueurs d'un poids $\geq 1,2$.

Tableau 3a. Liste des biomarqueurs avec les poids relatifs (W) et les seuils (T-, T+) fournis pour les différentes espèces d'invertébrés.

INVERTEBRATES	BIOMARKER	Digestive gland				Gills				Whole tissues				Whole tissues				Haemolymph				Gonads			
		W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species
	Acetylcholinesterase	1.5	25	30	abdef	1.5	25	30	abdef	0.75	25	30	af	1.5	25	30	c	1.5	25	30	abcdef				
	AcylCoA oxidase PP	1.2	20	30	abdef	1.2	20	30	abdef	0.6	20	30	af	1.2	20	30	c								
	Antioxiants catalase	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,5	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants Glutathione	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,5	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants Glutathione peroxidases CHP	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,5	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants Glutathione peroxidases H2O2	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,5	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants Glutathione reductase	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,5	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants Glutathione S transferases	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,6	25	25	af	1	25	25	c								
	Antioxiants SOD	1	25	25	abdef	1	25	25	abdef	0,6	25	25	af	1	25	25	c								
	BaP hydroxylase	0.6		50	abdef																				
	Butirrylcholinesterase	1.5	25	30	abdef	1.5	25	30	abdef	0.75	25	30	af	1.5	25	30	c	1.5	25	30	abcdef				
	Ca ATPase	1	25	30	abdef	1	25	30	abdef	1	25	30	af	1	25	30	c								
	Carboxylesterase	1.5	25	30	abdef	1.5	25	30	abdef	0.75	25	30	af	1.5	25	30	c	1.5	25	30	abcdef				
	DNA damage Comet					1.5		25	abdef									1.5		25	abcdef				
	DNA damage micronuclei					1.9			abdef									1.9			abcdef				
	EROD	0.7		100	abdef																				
a) Chamalea	Gonadosomatic Index																					1	15		abdef
gallina	Hepatosomatic Index	1		15	abdef																				
b) Crassostrea spp	Histopathology	2.4			abdef																2.4				abdef
c) Hediste	HSP	1		100	abdef	1		100	abdef	0.75		100	af	1		100	c								
diversicolor	Imposex																					1.9			d
d) Hexaplex spp	Lipofuscin	1.2	30	50	abdef	1.2	30	50	c																
e) Mytilus	Lysosomal stability LLP	1.2	25		abdef																				
galloprovincialis	Lysosomal stability NRRT																	1.2	25		abdef				
f) Tapes spp	Lysosomes cytoplasm	1.5		50	abdef									1.5		50	c								
	Malondialdehyde	1.2	30	50	abdef	1.2	30	50	abdef	0.75	30	50	af	1.2	30	50	c								
	Metallothioneins	1		40	abdef	1		40	abdef	0,5		40	af	1		40	c								
	Mortality (not survival!)													3		15	acdef								
	MXR	1.2	25	50	abdef	1.2	25	50	abdef	0.5	25	50	af	1.2	25	50	c								
	Neutral lipids	1.2	25	100	abdef									1,2	25	100	c								
	Pgp	1.2	25	50	abdef	1,2	25	50	abdef	0.6	25	50	af	1.2	25	50	c								
	Reproductive impairment													2.4		15	abcdef								
	Stress on Stress (Air survival time)													1.5	20		abcdef								
	TOSCA hydroxyl radicals	1.5	20	25	abdef	1.5	20	25	abdef	0.5	20	25	af	1.5	20	25	c								
	TOSCA peroxy radicals	1.5	20	25	abdef	1.5	20	25	abdef	0.5	20	25	af	1.5	20	25	c								
	TOSCA peroxy nitrite	1.5	20	25	abdef	1.5	20	25	abdef	0.5	20	25	af	1.5	20	25	c								
	Vitellogenin (mRNA or protein)	1.9			abdef									0.95			af	1.5			abcdef	1.9			abcdef
	Vitellogenin (male vs female)	1.9			abdef									0.95			af	1.5			abcdef	1.9			abcdef
	Vitellogenin (sample male vs control male)	1.9			abdef									0.95			af	1.5			abcdef	1.9			abcdef
	Granulocytes halynocytes ratio																	1	25	25	e				
	Phagocytosis %																	1	25	25	e				

Prodotto n. T2.1.1

Tableau 3b. Liste des biomarqueurs avec poids relatifs (W) et seuils (T-, T+) fournis pour les différentes espèces de vertébrés

VERTEBRATES	BIOMARKER	Liver			Gills			Brain			Blood			Bile			Spleen			Gonads			Whole animal			
		W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	W	T-	T+	Species	
	Acetylcholinesterase	1.5	25	30	ghijklm	1.9	25	30	ghijklm	1.9	25	30	ghijklm	1.5	25	30	ghijklm									
	AcylCoA oxidase PP	1.2	20	30	ghijklm	1.2	20	30	ghijklm																	
	ALA D													1	25	25	ghijklm									
	Antioxiants catalase	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants Glutathione	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants Glutathione peroxidases CHP	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants Glutathione peroxidases H2O2	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants Glutathione reductase	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants Glutathione S transferases	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	Antioxiants SOD	1	25	25	ghijklm	1	25	25	ghijklm	0.7	25	25	ghijklm													
	BaP hydroxylase	1.5		50	ghijklm																					
	Butirylcholinesterase	1.5	25	30	ghijklm	1.5	25	30	ghijklm					1.5	25	30	ghijklm									
	Ca ATPase	1	25	30	ghijklm	1	25	30	ghijklm																	
	Carboxylesterase	1.5	25	30	ghijklm	1.5	25	30	ghijklm					1.5	25	30	ghijklm									
	DNA damage Comet					1.5		25	ghijklm					1.5		25	ghijklm									
	DNA damage micronuclei					1.9			ghijklm					1.9			ghijklm		1.9		ghijklm					
	EROD	1.5		200	ghijklm	0.6		200	ghijklm	0.8		100	ghijklm													
	Gonadosomatic Index																				1	15		ghijklm		
	Hepatosomatic Index	1	15		ghijklm																					
	Histopathology	2.4			ghijklm																2.4			ghijklm		
	Carcinogenesis	2.4			ghijklm																					
	HSP	1		100	ghijklm	1		100	ghijklm																	
	Lipofuscin	1.2	30	50	ghijklm	1.2	30	50	ghijklm	0.6	30	50	ghijklm													
	Lysosomal stability LLP	1.2	25		ghijklm																					
	Lysosomal stability NRRT													1.2	25		ghijklm									
	Lysosomes cytoplasm	1.5		50	ghijklm																					
	Malondialdehyde	1.2	30	50	ghijklm	1.2	30	50	ghijklm	0.6	30	50	ghijklm													
	Bile metabolites (BaP)																	1		100	ghijklm					
	Bile metabolites (Naph)																	1		200	ghijklm					
	Bile Metabolites (Pyr)																	1		150	ghijklm					
	Metallothioneins	1		40	ghijklm	1		40	ghijklm																	
	Mortality (not survival!)																							3	15	ghijklm
	MXR	1.2	25	50	ghijklm	1.2	25	50	ghijklm	0.8	25	50	ghijklm													
	Neutral lipids	1.2	25	100	ghijklm																					
	Pgp	1.2	25	50	ghijklm	1.2	25	50	ghijklm	0.8	25	50	ghijklm													
	Porphyries	1		25	ghijklm									1		25	ghijklm									
	TOSCA hydroxyl radicals	1.2	25	50	ghijklm	1.2	25	50	ghijklm	0.8	25	50	ghijklm													
	TOSCA peroxy radicals	1.2	25	50	ghijklm	1.2	25	50	ghijklm	0.8	25	50	ghijklm													
	TOSCA peroxytrite	1.2	25	50	ghijklm	1.2	25	50	ghijklm	0.8	25	50	ghijklm													
	Vitellogenin (mRNA or protein)	1.9			ghijklm									1.9			ghijklm				1.9			ghijklm		
	Vitellogenin (male vs female)	1.9			ghijklm									1.9			ghijklm				1.9			ghijklm		
	Vitellogenin (sample male vs control male)	1.9			ghijklm									1.9			ghijklm				1.9			ghijklm		
	Zona radiata proteins	1.9			ghijklm									1.9			ghijklm				1.9			ghijklm		
	ZRP (male vs female)																									
	ZRP (sample male vs control male)																									

La variation mesurée pour chaque biomarqueur est comparée au seuil et corrigée à la fois pour la signification statistique de la différence par rapport au contrôle et pour la signification biologique de la réponse (Figure 7) ; également dans le module biomarqueur, la correction de la signification statistique est effectuée par l'application de la fonction z, déjà décrite dans l'organigramme relatif à la LOE-3 sur la biodisponibilité. Sur la base d'un jugement d'expert, la modification de chaque biomarqueur est affectée à l'une des 5 classes d'effet possibles : Absent ou faible si l'effet mesuré pour le biomarqueur est inférieur (ou proche) du seuil, Moyen si l'effet se situe entre le seuil et deux fois la valeur (pour les différences statistiquement significatives), Élevé si l'effet est entre 2 et 3 fois supérieur au seuil, Très élevé si l'effet est plus de 3 fois supérieur au seuil.

Les résultats de tous les biomarqueurs sont pondérés différemment dans le calcul du risque cumulatif HQ_{BM} , qui ne tient pas compte de la contribution des biomarqueurs des deux premières classes d'effet (Absent et Faible), calcule les effets pondérés moyens ($Effect_w$) pour ceux de la classe Moyenne, et ajoute (Σ) ceux affectés aux deux dernières classes d'effet (Élevé et Très élevé) :

$$HQ_{BM} = \left(\frac{\sum_{j=1}^N Effect_w(j)_{1 < Effect(j) \leq 2}}{num\ biomark_{1 < Effect(j) \leq 2}} + \sum_{k=1}^M Effect_w(k)_{Effect(j) > 2} \right)$$

Le niveau de risque global pour les biomarqueurs est ensuite calculé en fonction de la distribution en % des paramètres dans les différentes classes selon la formule :

$$(\%biomark_{Effect < 1} \cdot 1) + (\%biomark_{1 \geq Effect < 1.5} \cdot 1.5) + (\%biomark_{1.5 \geq Effect < 2.5} \cdot 2.5) + (\%biomark_{2.5 \geq Effect < 4} \cdot 4) + (\%biomark_{Effect \geq 4} \cdot 6)$$

La valeur obtenue peut aller d'un minimum (correspondant au niveau de danger du biomarqueur Absent, lorsque 100% des réponses analysées ont été attribuées à la première classe d'effet) à 600 (niveau de danger du biomarqueur Très élevé, lorsque 100% des réponses analysées ont été attribuées à la dernière classe d'effet). Le facteur multiplicatif est inférieur au facteur cubique décrit dans la LOE-3 sur la biodisponibilité, où même un seul composé chimique peut représenter un danger très élevé s'il est accumulé à des doses extrêmement

élevées ; dans une cellule, au contraire, les différentes réponses analysées sont toujours (directement ou indirectement) liées, et c'est pourquoi une intégration plus équilibrée entre le nombre, l'ampleur et la pertinence biologique des réponses a été calculée et validée.

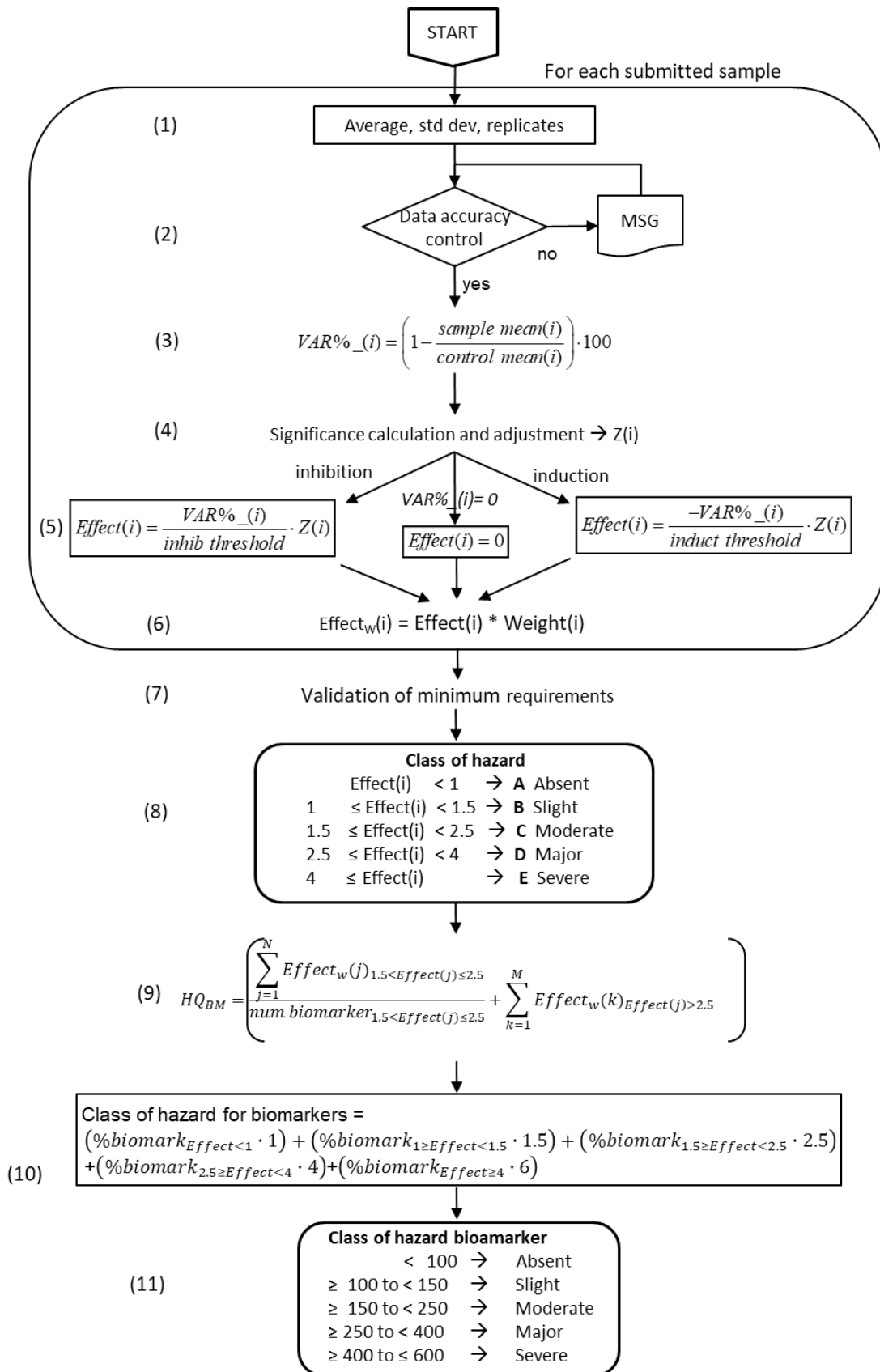


Figure 7: Organigramme du traitement des données des biomarqueurs, LOE-4.

La sortie du modèle indique le nombre de biomarqueurs dans chacune des 5 classes, la valeur cumulative du risque HQ_{BM} et la classe de risque globale pour les biomarqueurs (Figure 8).

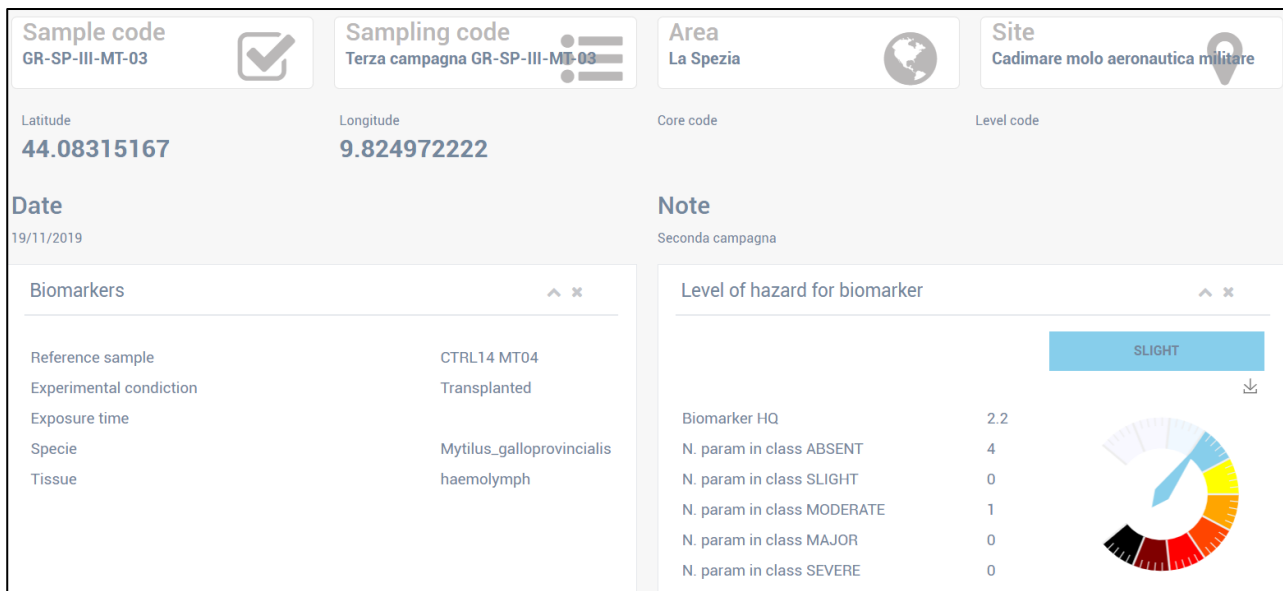


Figure 8: Exemple de sortie de modèle à partir du traitement des données sur les biomarqueurs, LOE-4.

2.5. LOE-5 (batteries d'essais écotoxicologiques)

Dans le module de traitement des essais d'écotoxicologie (LOE-5), vous pouvez choisir parmi une large sélection d'essais. Les essais écotoxicologiques comprennent l'utilisation de modèles biologiques représentatifs de nombreux *taxa* (cultures cellulaires, bactéries, algues et autres plantes aquatiques, rotifères, crustacés, nématodes, annélides, insectes, poissons, amphibiens) et de différents niveaux trophiques (des décomposeurs aux consommateurs secondaires), qui peut être appliqué pour tester la toxicité aiguë et/ou chronique des matrices les plus classiques (sédiments, éluutriats, échantillons d'eau), en mesurant des paramètres biologiques allant de la variation des activités enzymatiques à des modifications du comportement, l'apparition d'effets génotoxiques, l'altération de la croissance, du potentiel de reproduction et du développement, l'inhibition de la bioluminescence jusqu'à la mortalité. La liste des essais écotoxicologiques, des paramètres biologiques mesurés, des matrices et des temps d'exposition fournis dans le modèle est présentée dans le tableau 4.

Chaque test se voit attribuer un " poids " qui dépend du point final biologique mesuré, de la durée du test et de la matrice testée, ainsi qu'un " seuil " qui indique une variation considérée comme biologiquement significative pour chaque espèce (Seuil). Le modèle exige comme condition minimale qu'une batterie soit composée d'au moins 3 essais (avec 2 espèces et 2 points finaux différents).

Tableau 4: Liste des tests biologiques avec leurs poids, seuils et facteurs de correction, LOE-5

SPECIES	Endpoint (E)	Threshold (%)	Exposure (T)	Matrices (M)	Weight of Assay
<i>Acartia clausi</i>	mortality	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Acartia tonsa</i>	mortality	20	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Ampelisca diadema</i>	mortality	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Interstitial water, Elutriate, Wet sediment, Water column, Organic extracts	E x T x M
	behaviour	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Interstitial water, Elutriate, Wet sediment, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Artemia salina</i>	mortality	10	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Balanus amphitrite</i>	behaviour	10	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
	mortality	10	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Brachionus plicatilis</i>	mortality	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Corophium insidiosum</i>	behaviour	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Wet sediment	E x T x M
	mortality	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Wet sediment	E x T x M
<i>Corophium orientale</i>	behaviour	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Wet sediment	E x T x M
	mortality	15	Acute/Chronic	Whole sediment, Wet sediment	E x T x M
<i>Crassostrea gigas</i>	development	15	Acute/Chronic	Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	mortality	15	Acute/Chronic	Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
	growth	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	growth	10	Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	development	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Paracentrotus lividus</i>	reproduction	15	Acute	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
	development	15	Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	growth	10	Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Skeletonema costatum</i>	growth	10	Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
	mortality	15	Acute/Chronic	Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Sparus aurata</i>	growth	15	Acute/Chronic	Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
	reproduction	15	Acute	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Sphaerechinus granularis</i>	development	15	Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
	development	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Tapes philippinarum</i>	development	15	Acute/Chronic	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
<i>Tigriopus fulvus</i>	growth	10	Acute	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)
	mortality	10	Acute	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Tisbe battagliai</i>	mortality	15	Acute	Interstitial water, Elutriate, Water column, Organic extracts	E x T x M
<i>Vibrio fischeri</i>	bioluminescence	25	Acute	Whole sediment, Interstitial water, Elutriate, Wet sediment, Water column, Organic extracts	E x T x M (x H)

ENDPOINT	(E)	MATRIX	(M)
Behaviour	1	Whole sediment	1
Growth	1,2	Interstitial water	0,8
Reproduction	1,5	Elutriate	0,7
Development	1,9	Wet sediment	0,6
Bioluminescence	2,4	Water column	0,3
Mortality	3	Organic extracts	0,1
Algal grow	2,1	EXPOSURE TIME	(T)
		acute	1
		chronic	0,7

Prodotto n. T2.1.1

Comme le montre l'organigramme de la LOE-5 (figure 9), pour chaque essai, le modèle calcule l'effet (E), c'est-à-dire le pourcentage de variation du paramètre biologique par rapport au témoin, qui est ensuite corrigé en fonction de la signification statistique de la différence (au moyen de la fonction z, déjà décrite pour les précédentes LOE-3 et LOE-4) et lié à la valeur seuil spécifique de chaque essai (E_w).

La valeur de l'indice de danger écotoxicologique de la pile est donnée par la somme (Σ) des E_w calculés pour tous les essais, puis corrigée par un facteur w_2 qui tient compte de la pertinence du critère biologique mesuré, de la matrice et du temps d'exposition (tableau 4) :

$$HQ_{\text{Battery}} : \Sigma \text{Effect}_w(k) w_2$$

Pour l'attribution du niveau de danger résultant de la batterie d'essais écotoxicologiques, la valeur obtenue pour l'indice HQ_{Battery} est normalisée sur une échelle comprise entre 0 et 10, où 1 correspond à la valeur seuil de la batterie (c'est-à-dire la valeur HQ qui serait obtenue si tous les essais de la batterie montraient un effet égal au seuil respectif) et 10 correspond à la valeur maximale de la batterie (lorsque tous les essais montrent un effet de 100%). En fonction de la valeur normalisée de HQ_{Battery} , le niveau de danger écotoxicologique est attribué à la classe Absent (si <1 et avec tous les essais de la batterie avec $E_w < 1$, ou si $<0,8$ et au plus 1 essai avec $E_w > 1$), Faible (si entre 0,8 et 1,5), Moyen (entre 1,5 et 3), Élevé (entre 3 et 6), Très élevé (entre 6 et 10).

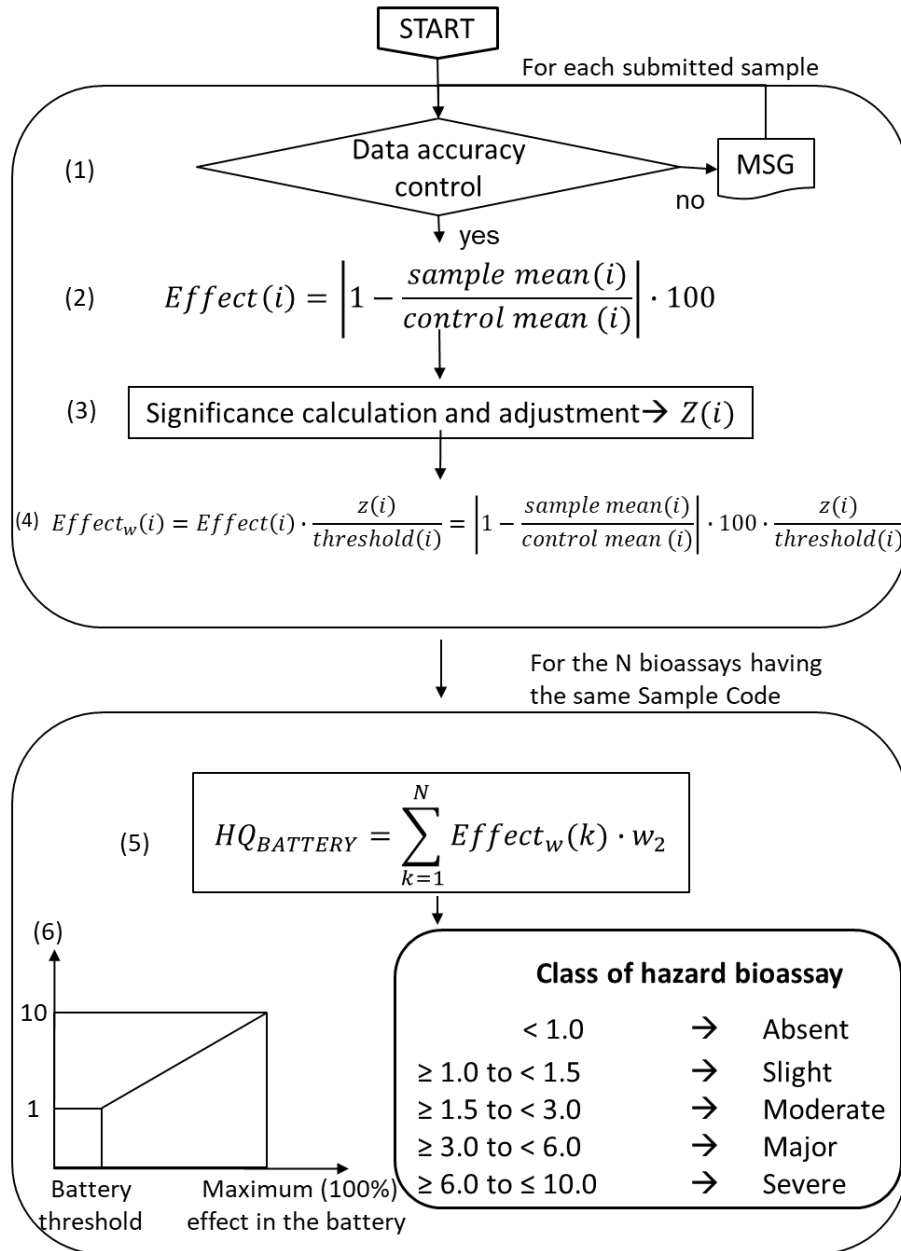


Figure 9. Organigramme du traitement des données des essais écotoxicologiques, LOE-5.

La sortie finale du modèle fournit des informations sur les effets mesurés dans les essais individuels, ainsi que la valeur de l'indice de danger calculé pour la batterie d'essais écotoxicologiques et son affectation à l'un des 5 niveaux de danger (figure 10).

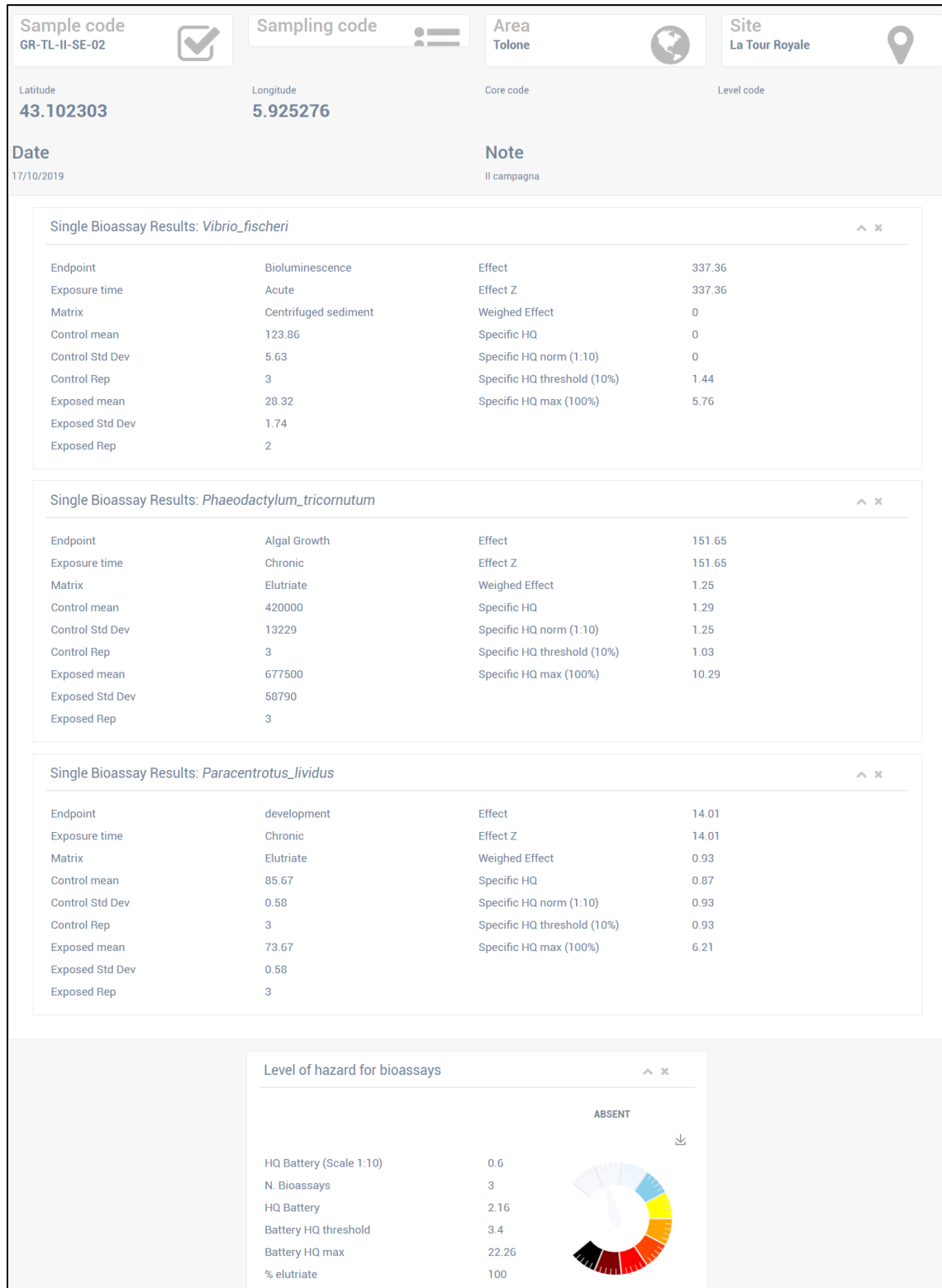


Figure 10: Exemple de sortie du modèle de traitement des essais écotoxicologiques, LOE-5.

2.6. LOE-6 (*Communautés benthiques*)

En ce qui concerne le traitement des données sur les communautés benthiques, le modèle utilise la liste des espèces pour traiter une large gamme d'indices univariés et multivariés, parmi les plus largement décrits et utilisés au niveau scientifique, qui prennent en compte la composition spécifique et la distribution des individus parmi les espèces et dans les échantillons individuels.

Parmi ceux-ci, il y a des descripteurs simples de la communauté tels que la densité numérique (N), la richesse taxonomique (S) prévue comme le nombre d'espèces ou de taxons par échantillon. Il existe également des indices de diversité taxonomique tels que l'indice de Shannon-Weaver (Shannon & Weaver, 1963), Margalef (Margalef, 1969), Pielou (Pielou, 1969).

D'autre part, les indicateurs écologiques développés incluent les indices AMBI (Borja *et al.*, 2000), M-AMBI (Muxika *et al.*, 2007), BENTIX (Simboura & Zenetos, 2002), BOPA (Gesteira & Dauvin, 2000), BITS (Mistri & Munari, 2008) et EcoQI (Zenetos & Simboura, 2001), EcoQII (Vincent *et al.*, 2002) (Tableau 5).

Tableau 5: Liste des descripteurs, indices et indicateurs écologiques de la communauté fournis par le modèle.

<p>Abondance totale</p> <p>N</p>	<p>Nombre total d'individus par échantillon</p>
<p>Richesse spécifique totale (Pielou, 1974)</p> <p>S</p>	<p>Nombre total d'espèces présentes dans chaque échantillon</p>
<p>Diversité spécifique de Shannon-Weaver (1949)</p> <p>H'</p> $H' = \sum_{i=1}^s (p_i)(\log 2 p_i)$ <p>p_i = fréquence numérique de la i-ème espèce par rapport au nombre total d'individus s = nombre d'espèces</p>	<p>Paramètre obtenu en comparant l'abondance totale et la richesse spécifique entre elles et avec les données de l'ensemble du stock échantillonné</p>
<p>Equitabilité de Pielou (1974)</p> <p>J</p> $J = \frac{H'}{H'_{\max}} = \frac{H'}{\log S}$	<p>Mesure de la répartition des individus entre les espèces</p>
<p>AZTI' Marine Biotic Index</p> <p>AMBI</p> $AMBI = \frac{[(0 \times \% GI) + (1.5 \times \% GII) + (3 \times \% GIII) + (4.5 \times \% GIV) + (6 \times \% GV)]}{100}$ <p>GI: espèces sensibles GII: espèces sensibles/tolérantes GIII: espèces tolérantes GIV: espèces opportunistes (deuxième ordre) GV: espèces opportunistes (premier ordre)</p>	<p>Il est basée sur la classification des espèces macrobenthiques en cinq groupes qui correspondent à différents niveaux de sensibilité, en partant du premier (I), le plus sensible, pour arriver au groupe V, qui comprend les espèces opportunistes caractéristiques des milieux fortement pollués</p>

Prodotto n. T2.1.1

<p>Multimetric-AZTI Marine Biotic Index M-AMBI</p>	<p>Les valeurs AMBI sont combinées avec celles de la diversité de Shannon (H') et de la richesse spécifique (S) au moyen d'une analyse factorielle</p>
<p>Benthic Index BENTIX $BENTIX = \frac{[6 \times \%GI + 2 \times (\%GII + \%GIII)]}{100}$ <p>GI: taxons sensibles et indifférents GII: taxons de second ordre tolérants et opportunistes GIII: taxons opportunistes de premier ordre</p> </p>	<p>Il utilise la même approche méthodologique que AMBI avec les groupes écologiques considérés réduits de 5 à 3</p>
<p>Benthic Opportunistic Polychaetes Amphipods BOPA $\log [fp/(fa + 1) + 1]$ <p>fp: fréquence des polychètes opportunistes; fa: fréquence des amphipodes</p> </p>	<p>L'indice prend en compte le nombre total d'individus dans l'échantillon, les polychètes et les amphipodes opportunistes</p>
<p>Benthic Index based on Taxonomic Sufficiency BITS $\log[(6fI + fII)/(fIII + 1) + 1] + \log[nI/(nII + 1) + nI/(nIII + 1) + 0.5nII/(nIII + 1) + 1]$ <p>fI, fII, fIII: fréquence des familles respectivement sensible, tolérante, opportuniste; nI, nII, nIII: nombre de foyers</p> </p>	<p>L'indice tient compte de la fréquence et du poids des ménages de l'échantillon, divisés en trois groupes : sensibles, tolérants et opportunistes</p>

Le modèle prévoit un traitement automatique de tous ces indices et, pour chacun d'eux, il élabore des indicateurs graphiques de dangerosité de la compréhension et de la lecture immédiate.

Prodotto n. T2.1.1

L'organigramme complet spécifique au module LOE6 est présenté à la figure 11. Les principales étapes, après une vérification des données, sont le calcul des descripteurs de la communauté, des indices et des indicateurs écologiques (Figure 12).

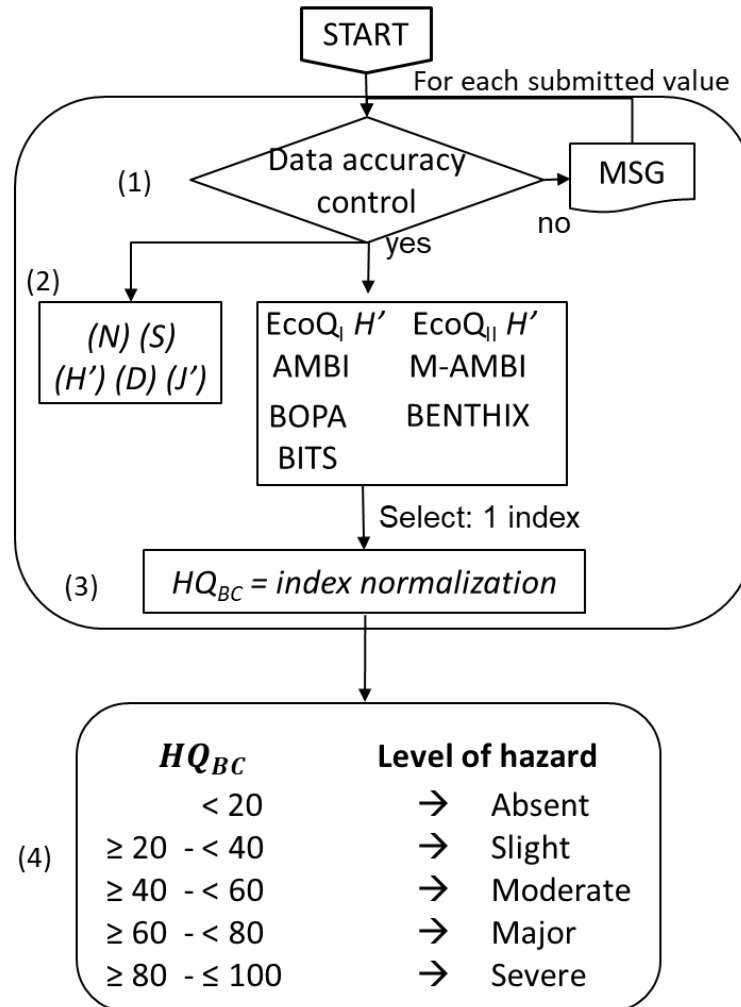


Figure 11. Organigramme du traitement des données sur les communautés benthiques, LOE-6.

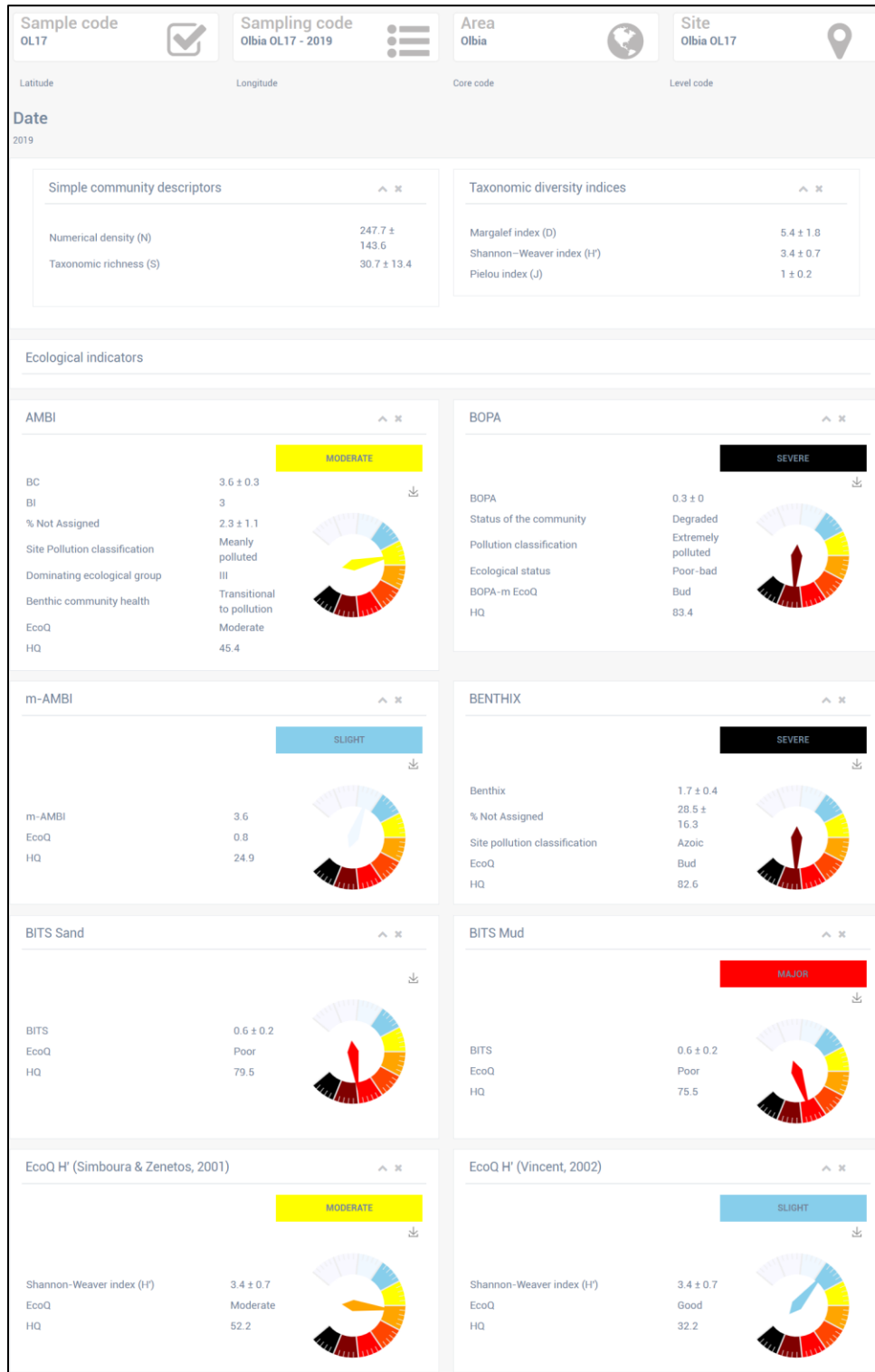


Figure 12: Exemple de sortie de modèle à partir du traitement des données sur la communauté benthique, LOE-6.

3. Integration Weight Of Evidence (WOE)

Les résultats obtenus à partir des modules individuels sont intégrés dans la dernière étape par une approche classique de triade (ou tétrade ou pentade, etc.) qui donne des poids différents aux différentes lignes de preuve selon le concept WOE (Chapman, 2007 ; Chapman & Hollert, 2006 ; Dagnino *et al.*, 2008, Regoli *et al.*, 2019). Les indices de danger spécifiques à chaque LOE doivent être normalisés à une échelle commune avant de multiplier ces valeurs par leurs pondérations respectives (Figure 13). Bien que l'attribution des pondérations dépende de la pertinence écologique des différents LOE utilisés, ce choix reste subjectif et peut être affecté par les caractéristiques spécifiques du site ou les objectifs de l'enquête ; en ce sens, le choix des pondérations à attribuer avant l'intégration des LOE peut être modifié par l'utilisateur. La sortie finale de l'intégration des LOE rapporte la liste de toutes les LOE qui ont été intégrées avec leur niveau de danger respectif, et la classe de risque globale obtenue à la fin du traitement (Figure 14).

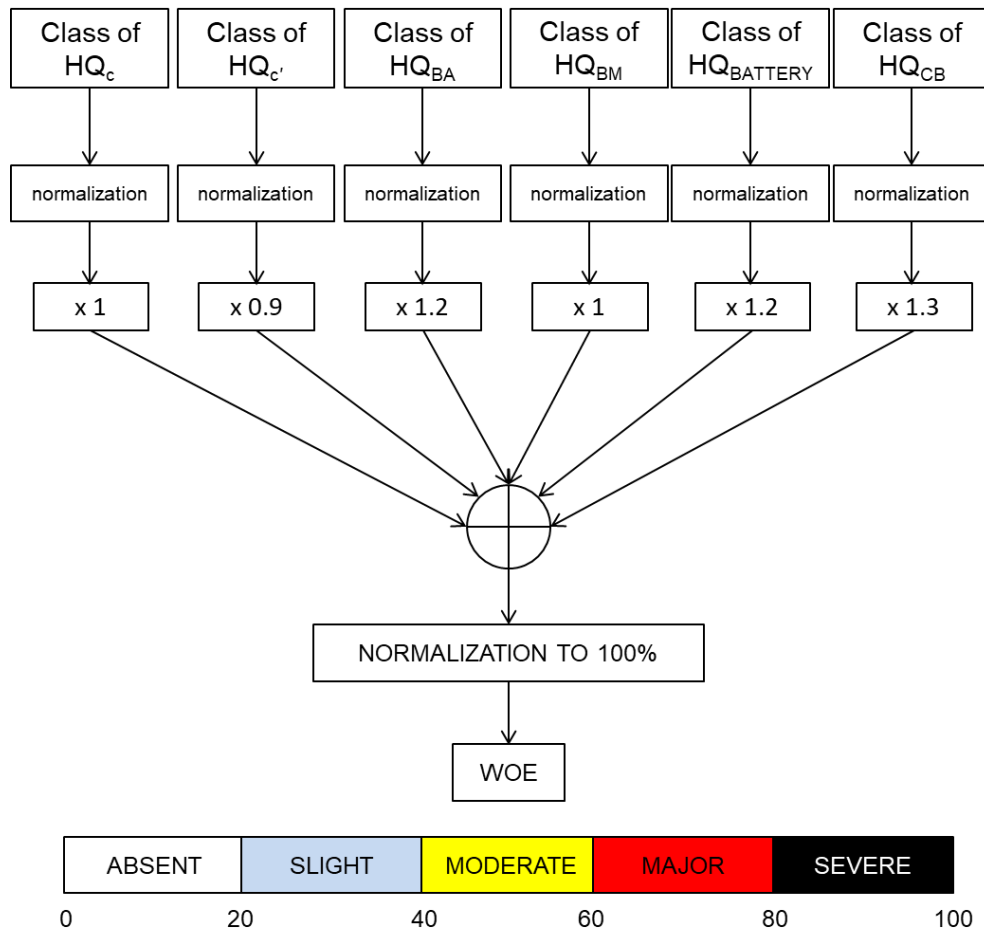


Figure 13. Organigramme de l'ensemble du traitement WOE des résultats obtenus à partir des différentes lignes de preuve.

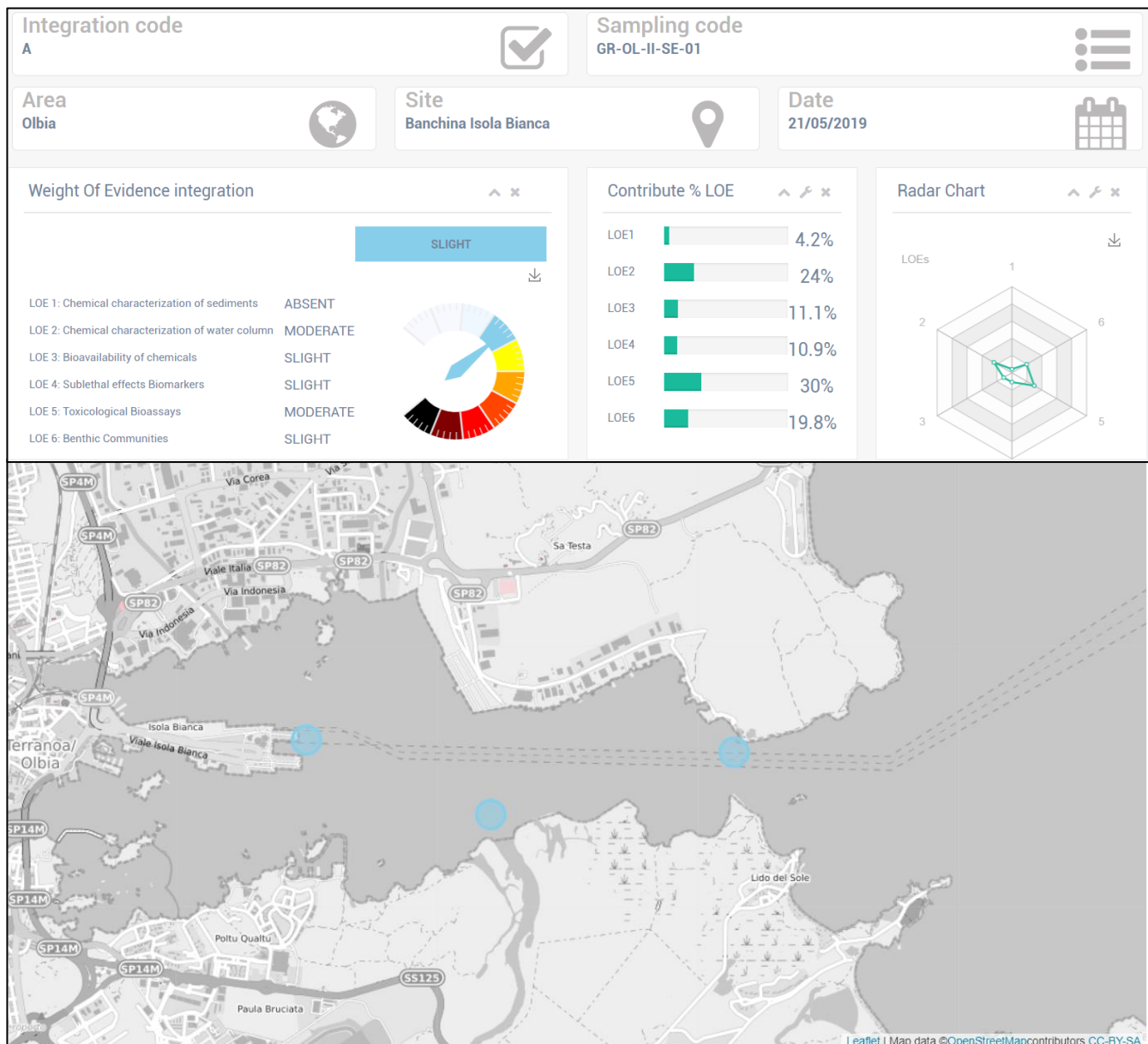


Figure 14: Exemple de sortie de modèle issue du traitement global du WOE des résultats obtenus à partir des différentes lignes de preuve.

4. Bibliographie

- Benedetti M, Ciaprini F, Piva F, Onorati F, Fattorini D, Notti A, Ausili A, Regoli F, 2012. A multidisciplinary weight of evidence approach for classifying polluted sediments: Integrating sediment chemistry, bioavailability, biomarkers responses and bioassays. *Environ Intern* 38: 17-28
- Benedetti, M., Gorbi, S., Fattorini, D., d'Errico, G., Piva, F., Pacitti, D., Regoli, F. (2014). Environmental hazards from natural hydrocarbons seepage: integrated classification of risk from sediment chemistry, bioavailability and biomarkers responses in sentinel species. *Environmental Pollution*. 185, 116-126.
- Bocchetti R, Fattorini D, Pisanelli B, Macchia S, Oliviero L, Pilato F, Pellegrini D, Regoli F, 2008. Contaminant accumulation and biomarkers responses in caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, to evaluate bioavailability and toxicological effects of remobilized chemicals during dredging and disposal operations in harbour areas. *Aquat Toxicol* 89: 257-266
- Borja A., Franco J., Perez V., 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1100-1114
- Cajaraville MP, Bebianno MJ, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A, 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci Total Environ* 247: 295-311
- Chapman PM, Hollert H, 2006. Should the sediment quality triad become a tetrad, a pentad, or possibly even a hexad? *J Soil Sediment* 6: 4-8
- Chapman, P.M., 2007. Determining when contamination is pollution – weight of evidence determinations for sediments and effluents. *Environ. Internat.* 33, 492-501

Prodotto n. T2.1.1

- Dagnino A, Sforzini S, Dondero F, Fenoglio S, Bona E, Jensen J, Viarengo A, 2008. A "Weight-of-Evidence" approach for the integration of environmental "Triad" data to assess ecological risk and biological vulnerability. *Integr Environ Assess Manag* 4: 314-26
- Decreto Ministeriale 173/2016, 15 luglio 2016. Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini
- DM 260/2010. Regolamento recante i Criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del medesimo decreto legislativo. G.U. 30 del 7 Febbraio 2011.
- Eggens M, Bergman A, Vethaak D, van der Weiden M, Celander M, Boon JP, 1995. Cytochrome P4501a indices as biomarkers of contaminant exposure: results of a field study with plaice (*Pleuronectes platessa*) and flounder (*Platichthys flesus*) from the southern North Sea. *Aquat Toxicol* 32: 211-225
- EU, 2006. Decision No. 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council of 20 November 2001 establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending. Directive 2000/60/EC
- Galloway TS, Brown RJ, Browne MA, Dissanayake A, Lowe D, Jones MB, Depledge MH, 2004. A multibiomarker approach to environmental assessment. *Environ Sci Technol* 38: 1723-1731
- Gesteira & Dauvin, 2000. Amphipods are Good Bioindicators of the Impact of Oil Spills on Soft-Bottom Macrobenthic Community. *Marine Pollution Bulletin*. 40. 1017-1027. 10.1016/S0025-326X(00)00046-1.
- Goksøyr A, 2006. Endocrine disruptors in the marine environment: mechanisms of toxicity and their influence on reproductive processes in fish. *J Toxicol Environ Health A*. 8: 175-184
- Hagger JA, Jones MB, Leonard DR, Owen R, Galloway TS, 2006. Biomarkers and integrated environmental risk assessment: are there more questions than answers? *Integr Environ Assess Manag* 2: 312-329

- Koehler A, 2004. Toxic injury and gender-specific hepatocellular carcinogenesis in flounder (*Platichthys flesus* (L.)). *Aquat Toxicol* 70: 257-276
- Long ER, MacDonald DD, Smith SL, Calder FD, 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ Manag* 19: 81-97
- Long ER, Morgan LG, 1991. The Potential for Biological Effects of Sediment-Sorbed Contaminants
 MacDonald Donald D, 1994. Approach to the Assessment of Sediment Quality in Florida Coastal Waters. *Florida Department of Environmental Protection, Tallahassee, Florida*
- Margalef, R., 1969. Perspectives in Ecological Theory. The University of Chicago Press, Chicago
- McCarty LS, Power M, Munkittrick KR, 2002. Bioindicators versus biomarkers in ecological risk assessment. *Human Ecol Risk Assess* 8: 159-164
- Mistri M., Munari C., 2008. BITS: a SMART indicator for soft-bottom, non-tidal lagoons. *Marine Pollution Bulletin* 56: 587-599
- Moore MN, Icarus Allen J, McVeigh A, 2006. Environmental prognostics: An integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status. *Mar Environ Res* 61: 278-304
- Muxika I., Borja A, Bald J, 2007. Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 55: 16-29
- National Oceanic and Atmospheric Administration.*
- O'Connor TP, 1998. The NOAA National Status and Trends Program. *Mar Pollut Bull* 37: 3-5
- Pielou, E.C., 1969. An Introduction to Mathematical Ecology. Wiley-Interscience, New York
- Piva F, Ciaprini F, Onorati F, Benedetti M, Fattorini D, Ausili A, Regoli F (2011). Assessing sediment hazard through a Weight Of Evidence approach with bioindicator organisms: a practical model to elaborate data from sediment chemistry, bioavailability, biomarkers and ecotoxicological bioassays. *Chemosphere* 83: 475-485

- Regoli F, 2000. Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquat Toxicol* 50: 351-361
- Regoli F, Pellegrini D, Winston GW, Gorbi S, Giuliani S, Virno-Lamberti C, Bompadre S, 2002. Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). *Mar Pollut Bull* 44: 912-922
- Regoli F., d'Errico G., Nardi A., Mezzelani, M., Fattorini, D., Benedetti M., Di Carlo M., Pellegrini D., Gorbi S. (2019). Application of a weight of evidence approach for monitoring complex environmental scenarios: The case-study of off-shore platforms. *Frontiers in Marine Science*. 6, 377.
- Regoli, F., Pellegrini, D., Cicero, A. M., Nigro, M., Benedetti, M., Gorbi, S., Fattorini, D., d'Errico, G., Di Carlo, M., Nardi, A., Gaion, A., Scuderi, A., Giuliani, S., Romanelli, G., Berto, D., Trabucco, D., Gui-di, P., Bernardeschi, M., Scarcelli, V., Frenzilli, G. (2014). A multidis-ciplinary weight of evidence approach for environmental risk asses-ment at the Costa Concordia wreck: integrative indices from Mussel Watch. *Marine Environmental Research*. 96, 92-104.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1963. *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana, Illinois
- Simboura & Zenetos, 2002. Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottoms marine ecosystems, including a new biotic index. *Mediterranean Marine Science*. 3/2: 77-111. *Mediterranean Marine Science*. 3. 71-111.
- Simboura N., Zenetos A., 2002. Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science* 3, 77-111
- Tested in the National Status and Trends Program. *NOAA Technical Memorandum NOS OMA 52*,
- UNEP, 1999. *Manual on the Biomarkers recommended for the Med Pol biomonitoring Programme*, UNEP, Athens 1999

Prodotto n. T2.1.1

- Viarengo A, Lowe D, Bolognesi C, Fabbri E, Koehler A, 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol. C* 146, 281-300
- Vincent C., Heinrich H., Edwards A., Nygaard K., Haythornthwaite J., 2002. Guidance on typology, reference conditions and classification systems for transitional and coastal waters, CIS Working Group 2.4(Coast) Common Implementation *Strategy of the Water Framework Directive, European Commission*