



**HAL**  
open science

## Risques sanitaires associés aux traceurs fluorescents utilisés en hydrologie

Jean Carré, Michel Joyeux, Antoine Montiel

► **To cite this version:**

Jean Carré, Michel Joyeux, Antoine Montiel. Risques sanitaires associés aux traceurs fluorescents utilisés en hydrologie. *Environnement, Risques & Santé*, 2007, 6 (6), pp.443-452. hal-03701923

**HAL Id: hal-03701923**

**<https://ehesp.hal.science/hal-03701923>**

Submitted on 28 Nov 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Risques sanitaires associés aux traceurs fluorescents utilisés en hydrologie

JEAN CARRÉ<sup>1</sup>  
MICHEL JOYEUX<sup>2</sup>  
ANTOINE MONTIEL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> École nationale de santé publique (ENSP),  
Département EGÉRIES,  
avenue du professeur  
Léon Bernard,  
35043 Rennes cedex  
<jcarre@ensp.fr>

<sup>2</sup> Eaux de Paris,  
rue Victor Schoelcher,  
75014 Paris  
<joyeux@eaudeparis.fr>

<sup>3</sup> 16, rue Paul Carle, 94600  
Choisy  
<montiel.antoine@free.fr>

Tirés à part :  
J. Carré

**Résumé.** Les traceurs fluorescents sont très utilisés pour déterminer les vitesses d'écoulement de l'eau dans le milieu superficiel ou souterrain en raison d'une facilité de mise en œuvre et d'un coût abordable. Le risque sanitaire pour le consommateur d'eau marquée par ces molécules est cependant mal connu. Peu d'informations sont disponibles quant aux dangers que présentent ces produits et les données toxicologiques sont parfois contradictoires. La caractérisation des expositions par voie orale, seule à considérer, est compliquée. Si le passage du pic de traceur s'approche d'une exposition de type aigu, les concentrations maximales atteintes sont, sauf accident, toujours très faibles. La libération différée d'une fraction du traceur piégé dans le terrain, conduirait plutôt à des expositions de type subchronique. En l'absence de valeur toxicologique de référence pour les différentes molécules, une évaluation quantitative des risques sanitaires n'est pas réalisable. Afin d'établir des recommandations pour l'usage de ces produits l'*United States Environmental Protection Agency* (US EPA) a appliqué la méthode SAR (*structure activity relationship*) à ces molécules. L'évaluation montre qu'aucun des traceurs fluorescents ne présente de risque important pour l'homme ou l'environnement aux concentrations utilisées pour ces produits. Le risque sanitaire pour le consommateur est considéré comme négligeable pour un niveau d'exposition correspondant à une concentration dans l'eau inférieure à 1 ou 2 mg/L durant 24 heures. En revanche, une réflexion menée par l'Agence fédérale pour l'environnement allemande et s'appuyant sur les résultats de tests de génotoxicité et d'écotoxicité, conduit à ne pas conseiller l'usage de certaines molécules. Au vu des différentes informations, toutes les molécules paraissent cependant utilisables sans restriction particulière, même si certaines d'entre elles telles que la fluorescéine et les stilbènes paraissent plus anodines que d'autres. Cela n'exclut pas d'adapter la quantité de produit injecté à l'objectif de traçage et de mettre en œuvre si nécessaire des mesures de gestion afin de limiter l'exposition.

**Mots clés :** eau ; évaluation risque sanitaire ; fluorescéines ; produits dangereux ; rivières ; stilbènes ; test toxicité ; valeur toxicologique de référence.

### Abstract

#### **Health risks associated with fluorescent tracers used in hydrology**

*Fluorescent tracers are widely used to determine the speed of water flow in surface or subterranean media because of their easy implementation and reasonable cost. The health risks for those who drink water marked by these molecules are not, however, well known. Little information is available about the hazards associated with these products and the toxicological data are sometimes contradictory. Characterization of oral exposure, the only route considered, is complicated. While passage of the tracer peak is accompanied by acute exposure, maximum concentrations are always very low, except in the event of accidental release. Delayed release of a fraction of the tracer, trapped in the ground, may lead to subchronic exposure. Without toxicological reference values for these different molecules, no risk assessment can be conducted. To establish guidelines for the use of these products, the US EPA (Office of Toxic Substances) used the SAR (structure-activity relationship) method. The evaluation showed that none of the fluorescent tracers presented a substantial risk to humans or the environment at the concentrations currently used. The risk of toxicity for consumers is nonexistent if the concentration remains below 1-2 mg/L per 24 h. On the other hand, an analysis in Germany, based on genotoxicity and ecotoxicity testing, resulted in a recommendation to avoid the use of some tracers. These various findings nonetheless indicate that all of these products are usable without any particular limitations, although some molecules — such as fluorescein and stilbenes — are more innocuous than others. This does not rule out*

Article reçu le 30 mai 2007,  
accepté le 1 octobre 2007

doi: 10.1684/ers.2007.0120

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

*adjustment of the quantity of product injected into the tracing target and implementation of measures to limit exposure, when necessary.*

**Key words:** *fluoresceins; hazardous substances; health risk assessment; rivers; stilbenes; toxicity tests; toxicological reference value; water.*

Afin de mettre en relation les zones d'infiltration et les points de prélèvement d'eau souterraine, ainsi que pour déterminer des vitesses d'écoulement de l'eau tant dans le milieu superficiel que souterrain, les hydrologues et hydrogéologues utilisent des traceurs. Cette pratique apparue à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle [1] s'est beaucoup développée avec l'accroissement du nombre de pollutions touchant les nappes.

Au fil du temps, les techniques de traçage se sont affinées avec, en parallèle, une multiplication des substances utilisées [2]. Parmi les traceurs mis en œuvre, les produits fluorescents occupent une place privilégiée. Il s'agit de molécules colorées ou non qui présentent des fluorescences permettant leur détection même à très faible concentration [3]. L'intérêt pour ces dernières tient à leur facilité de mise en œuvre ainsi qu'à un coût abordable.

Ces produits ont été souvent présentés comme sans risque pour la santé des consommateurs de l'eau tracée. Pourtant, l'usage de certaines substances toxiques ou suspectées de l'être, telles que le dichromate de sodium apprécié pour sa grande stabilité à la lumière [4] et la rhodamine 6G, a été abandonné.

Au-delà des risques pour la santé des consommateurs, ces produits doivent être sans risques pour l'environnement.

Après un inventaire des traceurs fluorescents couramment utilisés, cet article fait le point sur les connaissances disponibles à propos des dangers de ces molécules pour l'homme et l'environnement, sur les modes d'exposition et sur la caractérisation des risques associés à leur mise en œuvre en l'absence de valeur toxicologique de référence (VTR).

## Produits utilisés

Les traceurs fluorescents utilisés depuis plusieurs décennies appartiennent à plusieurs familles de molécules. Le *tableau 1* regroupe les produits les plus fréquemment cités dans la bibliographie [2, 5-8]. Il s'agit essentiellement de composés organiques hétérocycles.

Parmi ces produits, la fluorescéine et les rhodamines sont les plus fréquemment mises en œuvre. Néanmoins, l'utilisation des stilbènes, agents de blanchiment optique provenant de l'industrie papetière, tend à se développer.

## Dangers

La connaissance des effets sur la santé des traceurs fluorescents utilisés en hydrologie est très limitée. Peu de travaux toxicologiques ont porté sur ces produits. Aucun problème de santé chez l'homme lié à leur utilisation comme traceur n'est par ailleurs rapporté dans la littérature.

Il n'existe aucune information concernant ces molécules dans les bases de données toxicologiques internationales - ATSDR, US EPA, RIVM, Health Canada, NSF International, ITER (voir *glossaire*, page 451). Sur le site du Centre international de recherche contre le cancer (CIRC) des informations sont disponibles uniquement pour la rhodamine B et l'éosine.

Des informations toxicologiques figurent en revanche dans certaines publications et dans les bases concernant la santé au travail ainsi que dans certaines fiches accompagnant les produits industriels.

Les informations disponibles sont présentées ci-après.

## Colorants xanthéniques

Benoît-Guyod *et al.* [3] rapportent que parmi les colorants xanthéniques, les sulforhodamines se comportent comme des anions alors que les rhodamines B et 6G se comportent comme des cations, l'éosine, l'uranine et la rhodamine Wt ayant un comportement intermédiaire. Le coefficient de partage octanol-eau ( $K_{OW}$ ) permet de distinguer les sulforhodamines très hydro-solubles ( $K_{OW}$  9,5 et  $6,2 \cdot 10^{-3}$ ), des rhodamines 6G et B très liposolubles ( $K_{OW}$  5,1 et  $1,9 \cdot 10^{-2}$ ) et des molécules à caractère intermédiaire que sont la rhodamine Wt, l'éosine et l'uranine ( $K_{OW}$   $4,7 \cdot 10^{-2}$  pour les deux premières et  $4,1 \cdot 10^{-2}$ ). La forme ionique et l'hydrosolubilité interviennent fortement sur la toxicité des produits. Les dérivés sulfoniques anioniques, hydrosolubles sont ainsi moins toxiques que les composés très liposolubles se comportant comme des cations.

## Fluorescéine

Yankell [9] a montré qu'après une administration par voie orale de 3 000 et 4 200 mg/kg de fluorescéine, les souris ne présentaient pas d'effets observables liés au produit. Les animaux présentaient en revanche une décroissance de l'activité motrice spontanée et une ataxie à partir d'une concentration de 5 880 mg/kg. Une  $DL_{50}^1$  de 4 738 mg/kg pour la souris et de 6 721 mg/kg pour le rat a été déterminée.

McEneyrney [10] rapporte l'absence d'effets tératogènes chez le lapin après l'injection de fluorescéine à des doses comparables à celles utilisées chez l'homme comme agent de diagnostic en ophtalmologie (angiographie de la rétine).

Lutty [11] et Salem [12] ont montré qu'une unique injection intraveineuse de fluorescéine chez la souris ne produit pas d'effets embryotoxiques ni d'effets tératogènes. Cependant, cette substance traverse le placenta chez l'animal et peut être retrouvée dans le lait maternel chez l'homme.

<sup>1</sup>  $DL_{50}$ : dose entraînant la mort chez 50 % des sujets d'expérience.

**Tableau 1.** Traceurs fluorescents les plus couramment utilisés.

Table 1. Most commonly used fluorescent tracers.

Produits	Index Couleur	CAS	Formule
<b>Colorants xanthéniques</b>			
Uranine (fluorescéine sodique)	Acid Yellow 73 IC 45530	518-47-8	C <sub>20</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> , 2Na
Éosine	Acid Red 87	17372-87-1	C <sub>20</sub> H <sub>8</sub> Br <sub>4</sub> O <sub>5</sub>
Phloxine B	Acid Red 92 IC 45410	18472-87-2	C <sub>20</sub> H <sub>2</sub> Br <sub>4</sub> Cl <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Rhodamine B	Basic Violet 10 IC 45170	81-88-9	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl
Rhodamine Wt	Acid Red 388	37299-86-8	C <sub>29</sub> H <sub>29</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Cl 2Na
Rhodamine 6G	IC 45160	989-38-8	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl
Sulforhodamine B	Acid red 52 IC 45100	3520-42-1	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub>
Sulforhodamine G	Acid red 50 IC 42220	5873-16-5	C <sub>25</sub> H <sub>25</sub> N <sub>2</sub> NaO <sub>7</sub> S <sub>2</sub>
<b>Squelettes hydrocarbures polycycliques aromatiques</b>			
Lissamine flavine FF	Acid Yellow 7 IC 56205	2391-30-2	C <sub>19</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub> SNa
Amino G acide		86-65-7	
Pyranine	Solvent Green 7 IC 59040	6358-69-6	C <sub>16</sub> H <sub>7</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>10</sub> S <sub>3</sub>
Naphthionate de sodium		130-13-2	
<b>Stilbènes</b>			
Tynopal CBS-X Tynopal ABP	Fluorescent brightener 351	54351-85-8	N(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH) <sub>2</sub>
Photine CU Fluolite BW Leucophor C	Fluorescent brightener 15		

Les travaux de Yankell [9] indiquent que la fluorescéine concentrée peut présenter une très faible toxicité aiguë pour le rat par voie orale. La DL<sub>50</sub> est de 6 720 mg/kg. Ce produit peut entraîner une irritation oculaire chez le lapin et, par inhalation, une exposition excessive peut provoquer une légère irritation locale.

Un document de la Commission de la santé et de la sécurité au travail du Québec [13] indique que la fluorescéine entraîne une irritation cutanée chez l'animal. L'ingestion à forte dose peut s'accompagner d'une irritabilité, d'une diminution de l'activité motrice, de troubles de la coordination (ataxie) et de diarrhée. Plusieurs études suggèrent l'absence d'effet sur le développement de l'embryon.

Du point de vue écotoxicologique, des études de toxicité aiguë et chronique de la fluorescéine sur daphnies (*Daphnia pulex*) ont été conduites par Walthall et Stark en 1999 [14]. Celles-ci donnent des concentrations inhibitrices 50 (CL<sub>50</sub>) de 337 mg/L pour la fluorescéine. La fluorescéine est à l'origine d'effets sublétaux. Pouliquen [15] rapporte une concentration létale (CL<sub>50</sub>) de 997 mg/L pour le turbot.

## Phloxine B

Une très faible toxicité aiguë par voie orale pour le rat est rapportée dans la fiche de sécurité de la phloxine B<sup>2</sup>, la DL<sub>50</sub> étant de 8 400 mg/kg. Par ingestion, ce produit pourrait causer des irritations du système gastro-intestinal se manifestant par des nausées, des vomissements et des diarrhées.

Brown *et al.* [16] n'ont pas signalé d'effet mutagène pour cette substance avec le test d'Ames. La cancérogénicité de la phloxine n'est pas connue, le produit n'est pas classé par le CIRC.

Une toxicité aiguë et chronique pour les daphnies est signalée, la phloxine étant 800 fois plus toxique que la fluorescéine, la CL<sub>50</sub> à 48 heures étant de 0,423 mg/L contre 337 mg/L pour la fluorescéine [14]. En revanche, la phloxine ne présente pas d'effets sublétaux, à la différence de la fluorescéine.

## Éosine

Aucun cas d'intoxication et aucune donnée épidémiologique ne sont disponibles pour l'homme. Ce produit est classé dans le groupe 3 du CIRC correspondant aux produits inclassables quant

<sup>2</sup> Site Internet (MSDS P3885 08/10/04), Phloxine B. [www.jtbaker.com/msds/englishhtml/p3885.htm](http://www.jtbaker.com/msds/englishhtml/p3885.htm)

à leur cancérogénicité pour l'homme [17]. L'éosine a été testée seulement chez le rat par voie orale ou par injection sous-cutanée. Les résultats ne permettent pas une évaluation de la carcinogénicité de ce produit.

Brown *et al.* [16] n'ont pas signalé d'effet mutagène pour cette substance avec le test d'Ames.

L'ingestion d'une solution aqueuse d'éosine par des enfants ou par des personnes démentes est fréquente et sans risque. Il suffit de rincer la bouche et de donner un peu d'eau à boire. Une éventuelle coloration rouge des urines peut se produire<sup>3</sup>.

## Rhodamine B

La cancérogénicité chez la souris et le rat a été étudiée [18]. Les essais ne permettent pas de conclure sur les effets liés à une exposition par voie orale. Le produit est carcinogène chez le rat, par injection sous-cutanée, et entraîne des sarcomes localisés. L'apport de rhodamine B dans l'alimentation du rat (jusqu'à 4 % de la diète) n'entraîne pas de cancer. L'accroissement des tumeurs thyroïdiennes chez le rat et de néoplasmes hépatiques chez la souris recevant de la rhodamine B a cependant été observé. Cette molécule est classée dans le groupe 3 par le CIRC. Aucun problème de santé n'a été signalé chez l'homme et aucune étude épidémiologique n'est disponible.

Des effets contradictoires sont rapportés dans les essais de mutagenèse sur bactéries, une impureté associée au produit pouvant être à l'origine des effets positifs [19]. Des aberrations chromosomiques ont cependant été observées [20] ainsi que des échanges de chromatides sœurs sur des cultures de cellules de hamster. Aucun effet n'est en revanche observé sur une culture de fibroblaste humain.

Aucun effet sur la reproduction n'est signalé pour le rat ou la souris. Hood [21] rapporte que l'injection de rhodamine B chez la souris ne s'accompagne pas d'effets tératogènes contrairement à l'exposition à la rhodamine 6G.

Les études sur l'animal indiquent une toxicité aiguë modérée à forte. La DL<sub>50</sub> pour le rat et la souris est de 89,5 à 116 mg/kg par injection et de 174 à 997 mg/kg par voie orale. L'évaluation de la toxicité aiguë montre que la DL<sub>50</sub> par voie intrapéritonéale est, chez la souris, plus faible que par voie orale, mais légèrement supérieure chez le rat.

Un rapport de l'US EPA de 1982 [22] signale que la voie principale d'exposition des consommateurs à la rhodamine B est liée à l'usage de cosmétiques et de médicaments.

En présence de nitrites, la rhodamine B peut donner des composés N-nitrosés comme la diéthylnitrosamine (DNA) extrêmement cancérigènes [23]. La formation de ce composé n'est possible que dans les eaux superficielles, les nitrites, forme instable de l'azote, n'étant présents dans les eaux souterraines que dans des conditions particulières et seulement à de très faibles teneurs.

Rochat [24] rapporte que pour les daphnies une concentration de 10 mg/L n'a aucun effet et que la CL<sub>50</sub> à 24 heures est de 22 mg/L.

Smart [5] signale pour la rhodamine B liquide une toxicité aiguë pour les poissons. La DL<sub>50</sub> est supérieure à 100 mg/L et le développement d'une hyperplasie épithéliale a été observé chez le triton. Pour les daphnies et les guppies, la rhodamine B apparaît plus toxique que l'éosine et la fluorescéine [3].

## Rhodamine Wt

Nestmann [25] rapporte que la rhodamine Wt produit des mutations pour le test d'Ames avec ou sans activité métabolique, ce qui est confirmé par d'autres auteurs. Aucune atteinte chromosomique ou spermatique n'est observée chez la souris par injection intrapéritonéale. La rhodamine Wt est un irritant de la peau et de l'œil.

Jensen *et al.* [26] signalent l'absence d'effet de la rhodamine Wt jusqu'à 100 mg/L sur la charge en *Escherichia coli* ; cependant, Foxworthy et Kneeling, cités par cet auteur, avaient montré l'absence d'effets de la rhodamine B pour des teneurs inférieures à 4 mg/L.

Les tests de mutagenèse effectués sur des cellules d'ovaire de hamster chinois (cellule CHO) montrent un échange de chromatides sœurs à des concentrations de 6 mmol/L et des dommages à l'ADN à 80 mmol/L.

Pour la rhodamine Wt, le CDC/NIOSH<sup>4</sup> signale une très faible toxicité aiguë chez la souris avec une DL<sub>50</sub> de 462 mg/kg par voie intrapéritonéale et de 430 mg/kg par voie intraveineuse.

Comme la rhodamine B, la rhodamine WT peut donner des composés N-nitrosés tels que la diéthylnitrosamine (DNA). À conditions égales, le rendement dans la production de DNA avec la rhodamine Wt est deux fois supérieur à celui obtenu avec la rhodamine B [23].

Pour les daphnies et les guppies, la rhodamine Wt apparaît moins toxique que la rhodamine B mais aussi que l'éosine et la fluorescéine [3].

## Sulforhodamines

La faible toxicité par intraveineuse des sulforhodamines a été démontrée par Lutty [11].

La DL<sub>50</sub> de la sulforhodamine B par voie orale pour le rat est supérieure à 1 000 mg/kg [5].

Les sulforhodamines sont très peu toxiques vis-à-vis des daphnies et des guppies en raison de la présence d'une fonction acide sulfonique [3].

## Stilbènes

Des études portant sur le Tynopal RBS, AMS, 5BM et CBS ont été conduites par Keplinger *et al.* [27]. Au regard de la toxicité aiguë ou subchronique par voie orale, de l'irritation oculaire, de l'inhalation de poussières, de la toxicité aiguë pour le poisson (tableau 2), de la mutagénicité et de tests par patch sur l'homme, ces produits apparaissent peu toxiques, non mutagènes et non tératogènes.

<sup>3</sup> Source : [www.poissoncentre.be/article.php?id\\_article=59](http://www.poissoncentre.be/article.php?id_article=59)

<sup>4</sup> [www.cdc.gov/niosh/ipcsnfrn/nfrn0325.html](http://www.cdc.gov/niosh/ipcsnfrn/nfrn0325.html).

**Tableau 2.** Toxicité des stilbènes pour le poisson.

Table 2. Toxicity of stilbenes for fish.

Produit	Valeurs CL <sub>50</sub> (ppm)			
	Truite ( <i>Salmo gairdnerii</i> )		Poisson chat ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	
	24 heures	96 heures	24 heures	96 heures
Tynopal RBS	2 000	1 780	2 000	943
Tynopal AMS	2 000	750	2 000	1 060
Tynopal 5BM	120	108	105	86
Tynopal CBS	160	130	156	126
DDT pour comparaison		0,008		0,015

## Expositions

L'exposition à ces traceurs concerne tout d'abord les manipulateurs. Celle-ci peut se faire essentiellement par voie cutanée et par inhalation. En conséquence, des précautions de mise en œuvre accompagnent ces produits pulvérulents légers. En ce qui concerne la population générale, seule l'exposition par voie orale mérite d'être considérée.

La mise en œuvre, le suivi et l'interprétation des traçages artificiels dans le milieu souterrain ont été largement décrits [28-31]. Le succès d'un traçage dépend de la libération dans le milieu du produit traçant en quantité suffisante mais non excessive pour permettre une détection fiable dès le début de prélèvement et la détermination d'un pas de prélèvement adapté [32, 33]. La détermination de la quantité optimale à injecter, permettant de rester dans des conditions acceptables pour l'environnement et réduisant l'exposition des populations, peut être toutefois

délicate. L'opération peut en conséquence être répétée avec un accroissement de la quantité de produit injecté. En revanche, l'introduction de traceur en excès conduit souvent à compromettre l'interprétation de l'essai.

Les figures 1 et 2 présentent deux exemples de courbes de restitution de traceurs dans un système karstique et dans un milieu poreux.

Le traçage en karst (figure 1), réalisé avec l'acide aminé G, s'accompagne d'un pic de concentration observé 19 heures après l'injection et correspondant à une teneur maximale de 45 ng/L. Le pic de concentration est très bref. Au-delà, la concentration diminue fortement, même si l'on observe quelques remontées de concentration qui restent inférieures à 5 ng/L. Malgré l'existence d'une circulation rapide de l'eau par la fissuration, le taux de restitution du traceur, très faible (5,3 %), laisse présager d'autres relargages et une perte définitive de produit.

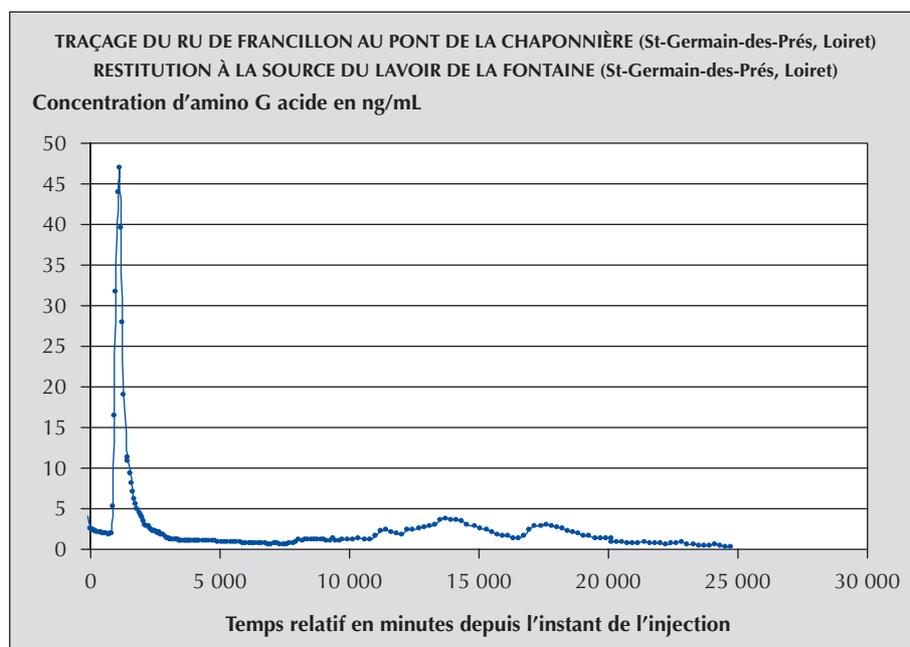
**Figure 1.** Traçage à l'acide aminé G dans les calcaires karstiques du Loiret.

Figure 1. Tracing amino G in the limestone karst of the Loiret.

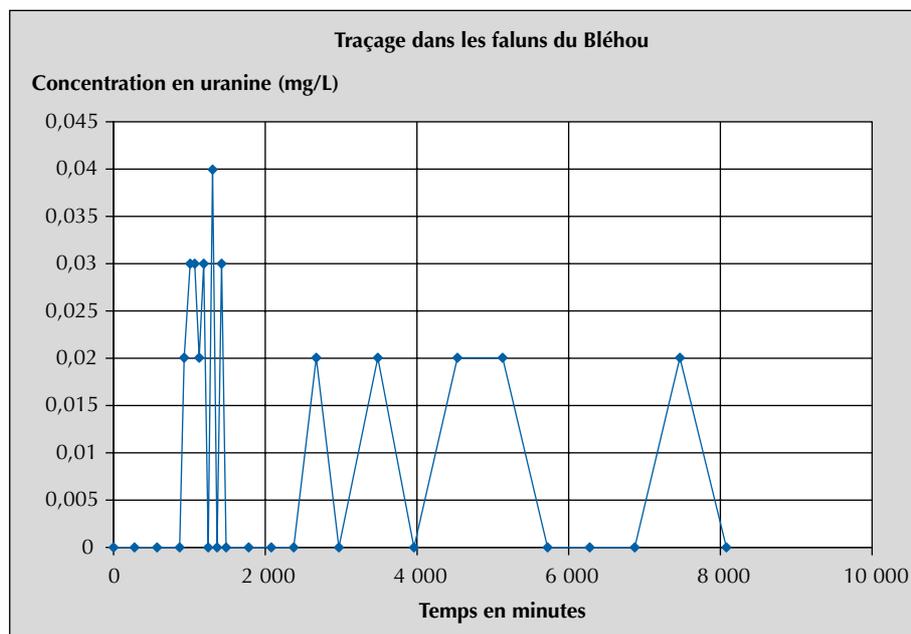


Figure 2. Traçage à la fluorescéine dans les sables calcaires de la Manche (faluns).

Figure 2. Tracing fluorescein in the calcareous sands in the Manche district (faluns).

Le traçage est réalisé dans ce cas en milieu poreux. Malgré une porosité importante de la roche dans ces conditions (20 %), l'adsorption du traceur est importante. Le pic de concentration est moins net qu'en milieu fissuré et la restitution se fait sous forme de bouffées successives (figure 2) dont les teneurs sont peu élevées (20 µg/L).

De manière générale, les suivis des traçages se font sur des durées suffisantes pour permettre l'interprétation, mais la fin de restitution du traceur est rarement observée.

Le retard à la restitution des traceurs, bien décrit dans la littérature, provient, dans le karst, de vitesses de circulation variables selon l'ouverture des fractures, d'une rétention dans la porosité de la roche et d'une adsorption sur les argiles. Les phénomènes d'adsorption des traceurs fluorescents, très importants en milieu poreux, conduisent en général à recourir à d'autres molécules pour réaliser les traçages.

Les opérations de traçage se présentent comme des opérations de durée limitée et normalement uniques. Il s'agit donc d'une exposition courte qui conduirait à ne s'intéresser qu'aux effets aigus. Ceux-ci sont peu probables en raison des faibles doses auxquelles les consommateurs peuvent être exposés. Les phénomènes de fixation réversible dans les terrains, peuvent en revanche conduire à des effets subchroniques.

La figure 3 présente un exemple de traçage en eau de surface, illustré par la courbe de concentration pour un même traçage à la rhodamine B, effectué sur le Léguer (Côtes d'Armor), avec un suivi du panache sur cinq stations.

En eau de surface, la seule contrainte pour la réalisation d'un traçage est la détermination de la quantité de produit à injecter pour que celui-ci reste visible malgré la coloration naturelle de

l'eau. Les quantités utilisées sont en conséquence souvent très importantes (plusieurs centaines de grammes par litre au point d'injection).

Au fil des stations, la durée de passage du panache s'accroît, mais, en revanche, la concentration maximale diminue. La figure 3 montre l'importance de la dilution. Le suivi du devenir du traceur dans le milieu superficiel est aisé, et sauf rétention le long des berges ou stagnation dans des secteurs de calme, celui-ci est exporté totalement vers l'aval. L'exposition à prendre en compte en eau de surface serait plutôt de type aigu.

Il faut rappeler qu'à la différence des eaux souterraines distribuées en général après une simple désinfection, les eaux de surface font l'objet d'un traitement qui permet l'élimination de tout ou partie du traceur. En effet, ces produits facilement adsorbables [2], sont éliminés dans l'étape de coagulation, détruits par l'ozone ou adsorbés lors de la filtration sur charbon actif.

### Caractérisation des risques

Il n'existe pas dans la littérature de relations dose-réponse pour les traceurs fluorescents, au moins pour une exposition par voie orale.

En l'absence de valeurs toxicologiques de référence, l'US EPA et un groupe de travail allemand ont développé deux approches pour se prononcer sur les risques liés à l'utilisation de ces produits et définir des conditions de mise en œuvre.

L'étude américaine [34] s'est intéressée à 13 molécules. Leur toxicité a été évaluée par l'Office des substances toxiques de l'EPA selon la méthode SAR (*structure activity relationship*) développée pour évaluer la toxicité de produits industriels [35, 36].

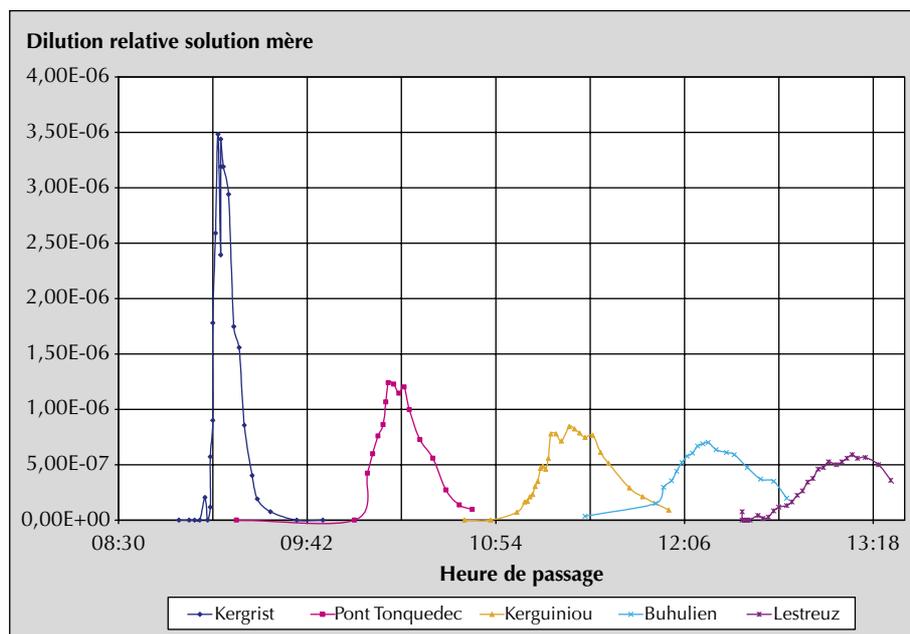


Figure 3. Traçage à la rhodamine B sur le Léguer (Côtes d'Armor).

Figure 3. Tracing rhodamine B on the Léguer River (Côtes d'Armor).

Cette méthode permet de prédire le potentiel toxique d'une molécule à partir de sa configuration chimique, des données toxicologiques disponibles sur des produits analogues testés expérimentalement, et en utilisant des algorithmes prenant en compte l'activité biologique. L'évaluation réalisée s'appuie sur des effets cancérogènes, mutagènes, sur les données de toxicité aiguë, chronique et de neurotoxicité, sur les altérations du développement et de la reproduction ainsi que sur des effets écotoxiques. Un niveau de risque est attribué à chacun des produits en fonction de la gravité possible des effets. Les résultats de l'étude sont présentés dans le *tableau 3*.

L'évaluation réalisée par l'EPA montre qu'au regard de la santé humaine et de l'écotoxicité, l'utilisation des traceurs étudiés ne s'accompagne que d'un niveau de risque faible à modéré. Toutefois, cette étude ne prend pas en compte les effets liés aux produits de dégradation des traceurs, ni aux synergies possibles avec d'autres composés présents dans l'eau.

Aucun des traceurs fluorescents ne peut présenter un risque significatif pour la santé si la concentration dans l'eau est maintenue à une valeur inférieure à 2 mg/L durant 24 heures au point

Tableau 3. Niveaux de risque associés à l'utilisation des traceurs fluorescents.

Table 3. Levels of risk associated with the use of fluorescent tracers.

Traceur	Niveau de risque *	
	Humain	Écologique
Fluorescéine	F	M
Éosine	F-M	F-M
Rhodamine B	F-M	M
Rhodamine Wt	F-M	M
Rhodamine G	F-M	F-M
Sulforhodamine B	F-M	F-M
Agent de blanchiment 351	M	F-M
Agent de blanchiment 22	M	F-M
Agent de blanchiment 28	F-M	F-M
Pyranine	F	F-M
Amino G	M	F-M

\* F : faible ; M : modéré.

\* F: low; M: moderate.

**Tableau 4.** Effets génotoxiques et écotoxiques des traceurs fluorescents.

Table 4. Genotoxic and ecotoxic effects of fluorescent tracers.

	Génotoxicité		Écotoxicité	
	Test d'Ames	Analyse cytogénétique	Test poisson	Test daphnies
Fluorescéine	-	-	-	ne
Éosine	-	-	-	-
Sulforhodamine B	ne	ne	ne	ne
Amino G	-	-	-	-
Rhodamine Wt	-	-	-	-
Rhodamine B	+	+	+	+
Rhodamine 6G	-	+	-	+
Naphtionate de sodium	+	+	+	+
Pyranine	-	-	-	-
Tynopal CBS-X	-	-	-	-
Tynopal ABP	-	-	-	-

ne : non étudié.

ne: not studied.

de captage. Cette concentration se situe en dessous des niveaux de toxicité aiguë pour les organismes aquatiques.

Partant des travaux de Smart [5, 37], un groupe de travail mis en place par l'Agence fédérale pour l'environnement en Allemagne [38] dont les résultats sont synthétisés par Behrens *et al.* [39] s'est intéressé à 17 traceurs dont 11 traceurs fluorescents, à savoir : la fluorescéine, l'éosine, la sulforhodamine B, l' amino G, la rhodamine Wt, la rhodamine B, la rhodamine 6G, le naphthionate de sodium, la pyranine, le Tynopal CBS-X et le Tynopal ABP. Ces produits ont fait l'objet d'essai de génotoxicité (mutations sur *Salmonella* et analyses des aberrations chromosomiques) et d'écotoxicité (test poisson et test daphnies). Les résultats figurent dans le *tableau 4*.

Au regard de leurs effets génotoxiques et écotoxiques, l'usage des produits a été discuté. Les recommandations faites par le groupe pour l'utilisation de ces traceurs sont présentées dans le *tableau 5*.

## Conclusions

Il existe peu d'informations toxicologiques concernant les traceurs fluorescents utilisés en hydrologie, en particulier pour l'exposition par voie orale, seule voie importante vis-à-vis du consommateur d'eau.

Les résultats des études, parfois contradictoires, pourraient s'expliquer par la présence d'impuretés dans les produits utilisés.

Les informations disponibles ne montrent pas pour autant de risque significatif pour la santé du consommateur pour un niveau d'exposition correspondant aux concentrations susceptibles d'être retrouvées dans l'eau. Les substances utilisées n'ont pas montré d'effets cancérogènes chez l'animal.

Les traçages correspondent à des opérations qui s'étalent sur quelques jours, voire quelques semaines, le pic de concentration du produit ne durant que quelques heures. Il serait alors plutôt légitime de s'intéresser aux effets aigus. Néanmoins, les doses

**Tableau 5.** Préconisations pour l'utilisation des traceurs fluorescents.

Table 5. Recommendations for the use of fluorescent tracers.

Traceur	Utilisation/évaluation toxicologique	Fondements de l'évaluation*
Fluorescéine	sans limite	T, B
Éosine	sans limite	B, Ex
Sulforhodamine B	douteuse/écotoxicologie	T
Amino G	sans limite	T
Rhodamine Wt	non conseillée	T
Rhodamine B	non conseillée	T, B
Rhodamine 6G	non conseillée	T, B
Naphtionate de sodium	sans limite	T
Pyranine	sans limite	T
Tynopal CBS-X	sans limite	T
Tynopal ABP	sans limite	T

\* T : tests toxicologiques ; B : données bibliographiques ; Ex : avis des experts.

\* T: toxicological tests; B: bibliographic data; Ex: expert opinion.

auxquelles les consommateurs peuvent être exposés sont, sauf accident, très faibles. Cependant ces opérations sont parfois répétées et les relargages que subit un traceur dans le milieu souterrain, tout particulièrement en milieu poreux, conduit à allonger considérablement la durée d'exposition au produit. Les effets liés à une exposition subchronique ne peuvent être totalement écartés pour certains traceurs comme la rhodamine B qui est capable d'induire une activité génotoxique *in vitro*.

L'absence de VTR pour ces molécules exclut toute évaluation quantitative des risques.

L'évaluation des risques réalisée par l'US EPA montre que les traceurs colorants peuvent être utilisés sans risque pour la santé dès que la quantité de produit au robinet du consommateur ne dépasse pas une concentration de 1 à 2 mg/L durant 24 heures. Il s'agit toutefois d'une approche reposant sur la comparaison de propriétés des traceurs avec celles de molécules dont la toxicité est connue et considérée comme applicable à certains traceurs. L'approche proposée repose donc sur l'expérience et le jugement d'un groupe d'experts. Par ailleurs, les arguments retenus par les auteurs pour cette évaluation ne sont pas tous présentés dans les documents.

La position allemande fondée sur un classement des produits en fonction de l'existence ou non de données toxicologiques et des résultats négatifs pour certains tests, conduit à ne pas recommander l'emploi de certaines molécules. Cette position prive l'hydrologue de traceurs intéressants et peut conduire parfois à leur préférer des traceurs non fluorescents, présentés comme « propres » et qui peuvent poser d'autres problèmes. Il en est ainsi des bromures qu'il est nécessaire d'injecter à des concentrations élevées en raison de la teneur naturelle dans les eaux (0,1 à 2 mg/L) et qui à l'occasion de la désinfection de l'eau conduisent à la formation de trihalométhanes (THM) bromés.

Au vu des informations disponibles, toutes les molécules paraissent utilisables sans restriction particulière, même si certaines d'entre elles, telles que la fluorescéine ou les stilbènes, paraissent plus anodines que d'autres.

Cela n'exclut pas d'adapter la quantité de produit à l'objectif, en prenant en compte l'importance du réservoir et du flux superficiel ou souterrain pour éviter que de fortes concentrations parviennent jusqu'au robinet du consommateur. La détection de ces molécules jusqu'à de très faibles concentrations facilite cette adaptation. Par ailleurs, pour éviter la répétition des traçages, ceux-ci doivent être réalisés par des intervenants compétents.

Enfin, les traçages correspondent à des opérations brèves qui permettent éventuellement de ne pas utiliser l'eau tracée pour la boisson ; cela s'applique tout particulièrement aux eaux superficielles dont le prélèvement peut être momentanément interrompu. ■

### Glossaire

<b>ATSDR</b>	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
<b>CDC/NIOSH</b>	Centers for Disease Control and prevention/The National Institute for Occupational Safety and Health
<b>CIRC</b>	Centre international de recherche contre le cancer
<b>CL</b>	Concentration létale
<b>DENA</b>	Diéthylnitrosamine
<b>DL</b>	Dose létale
<b>ITER</b>	International Toxicity Estimates for Risk Database
<b>NSF</b>	National Sanitation Foundation
<b>RIVM</b>	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
<b>US EPA</b>	United States Environmental Protection Agency
<b>VTR</b>	Valeur toxicologique de référence
<b>THM</b>	Trihalométhanes

## Références

- Trillat A. Sur l'emploi des matières colorantes pour la recherche de l'origine des sources et des eaux d'infiltration. *CR Hebd Seances Acad Sci* 1889 ; 128 : 698-700. <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k30841>.
- Flury M, Wai NN. Dyes as tracers for vadose zone hydrology. *Rev Geophys* 2003 ; 41 : 1002.
- Benoît-Guyod JL, Rochat J, Alary J, Andre C, Taillandier G. Corrélations entre propriétés physicochimiques et écotoxicité des traceurs fluorescents xanthéniques. *Tox Eur Res* 1979 ; II : 241-6.
- Roche M. *Hydrologie de surface*. Paris : Gauthier-Villars ; Orstom éditions, 1963.
- Smart PL. A review of the toxicity of twelve fluorescent dyes used for water tracing. *NSS Bull* 1984 ; (October) : 21-33.
- US Environmental Protection Agency (US EPA), Office of Research and Development. *The QTracer Program for tracer-breakthrough curve analysis for karst and fractured-rock aquifers*. EPA/600/R-98/156a. Washington (DC) : US EPA, 1999.
- Société suisse d'hydrogéologie (SSH), Groupe de travail « Traçage ». *Utilisation des traceurs artificiels en hydrogéologie*. Rapport de l'OFEG, Série Géologie, n°3. Berne : SSH, 2002.
- Meus P, Bakalowicz M. Les traçages artificiels, outils de reconnaissance et d'étude des aquifères karstiques. *Hydrogéologie* 1997 ; 3 : 43-50.
- Yankell SL, Loux JJ. Acute toxicity testing of erythrosine and sodium fluorescein in mice and rats. *J Periodontol* 1977 ; 48 : 228-31.
- McEnerney JK, Wong WP, Peyman GA. Evaluation of teratogenicity of fluorescein sodium. *Am J Ophthalmol* 1977 ; 84 : 847-50.
- Lutty GA. The acute intravenous toxicity of biological stains, dyes, and other fluorescent substances. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978 ; 44 : 225-49.
- Salem H, Loux JJ, Smith S, Nichols CW. Evaluation of the toxicologic and teratogenic potentials of sodium fluorescein in the rat. *Toxicology* 1979 ; 12 : 143-50.
- Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST). Service du répertoire toxicologique. [www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no\\_produit=280198&nom=URANINE](http://www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no_produit=280198&nom=URANINE).
- Walthall WK, Stark JD. The acute and chronic toxicity of two xanthene dyes, fluorescein sodium salt and phloxine B, to *Daphnia pulex*. *Environ Pollut* 1999 ; 104 : 207-15.

15. Pouliquen H, Algoet M, Buchet V, Le Bris H. Acute toxicity of fluorescein to turbot (*Scophthalmus maximus*). *Vet Hum Toxicol* 1995 ; 37 : 527-9.
16. Brown JP, Dietrich PS, Bakner CM. Mutagenicity testing of some drug and cosmetic dye lakes with the Salmonella/mammalian microsome assay. *Mutat Res/Gen Toxicol* 1979 ; 66 : 181-5.
17. International Agency for Research on Cancer (IARC). *Eosine and eosine disodium salt*. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 15. Lyon : IARC, 1977.
18. International Agency for Research on Cancer (IARC). *Rhodamine B*. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 16. Lyon : IARC, 1978.
19. Nestmann ER, Douglas GR, Matula TI, Grant CE, Kowbel DJ. Mutagenic activity of rhodamine dyes and their impurities as detected by mutation induction in Salmonella and DNA damage in Chinese ovary cells. *Cancer Res* 1979 ; 39 : 4412-7.
20. Lewis II, Patterson RM, McBay HC. The effects of rhodamine B on the chromosomes of *Muntiacus muntjak*. *Mutat Res* 1981 ; 88 : 211-6.
21. Hood RD, Jones CL, Ranganathan S. Comparative developmental toxicity of cationic and neutral rhodamines in mice. *Teratology* 1989 ; 40 : 143-50.
22. US Environmental Protection Agency (US EPA), Office of toxic substances. *Rhodamine B*. Chemical hazard information profile draft report. Washington (DC) : US EPA, 1982.
23. Abidi SL. Detection of diethylnitrosamine in nitrite-rich water following treatment with rhodamine flow tracers. *Water Res* 1982 ; 16 : 199-204.
24. Rochat J, Demenge P, Rerat JC. Contribution à l'étude toxicologique d'un traceur fluorescent la Rhodamine B. *Toxicol Eur Res* 1978 ; 1 : 23-6.
25. Nestmann ER, Kowbel DJ. Mutagenicity in Salmonella of Rhodamine WT, a dye used in Environmental water-tracing studies. *Mutat Res/Genetic Toxicology* 1979 ; 68 : 389-92.
26. Jensen M, Kristensen KK. Effects of rhodamine water tracer on Escherichia coli densities. *Water Res* 1989 ; 23 : 257-9.
27. Keplinger ML, Fancher OE, Lyman FL, Calandra JC. Toxicologic studies of four fluorescent whitening agents. *Toxicol Appl Pharmacol* 1974 ; 27 : 494-506.
28. Lepiller M, Mondain P. Les traçages artificiels en hydrogéologie karstique, mise en œuvre et interprétation. *Hydrogéol* 1986 ; 1 : 33-52.
29. Dzikowski M. Convolution in time-dependent system from artificial tracer tests responses in porous or karst systems ; theory and modelling. *J Hydrol* 1995 ; 16 : 287-303.
30. Dzikowski M, Delay F, Sauty JP, Crampon N, de Marsily G. Convolution in time dependent system from artificial tracer test responses ; application on a karst system (Causse de Gramat Lot, France). *J Hydrol* 1995 ; 16 : 305-24.
31. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Tracer-test planning using the efficient hydrologic tracer-test design (EHTD) program*. EPA/600/R-03/034. Washington (DC) : National Center for Environmental Assessment, 2003.
32. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Ground-water monitoring in karst terranes : recommended protocols and implicit assumptions*. Mammoth Cave (Kentucky) : National Park Service, 1989.
33. Field MS. A review of some tracer-test design equations for tracer-mass estimation and sample-collection frequency. *Environ Geol* 2003 ; 43 : 867-81.
34. Field MS, Wilhelm RG, Quinlan JF, Aley TJ. An assessment of the potential adverse properties of fluorescent tracer dyes used for groundwater tracing. *Environ Monit Assess* 1995 ; 38 : 175-96.
35. Auer CM, Nabholz JV, Baetcke KP. Mode of action and the assessment of chemical hazards in the presence of limited data : use of the Structure-Activity Relationships (SAR) under TSCA, section 5. *Environ Health Perspect* 1990 ; 87 : 183-97.
36. Auer CM, Gould DH. Carcinogenicity assessment and the role of structure activity relationship (SAR) analysis under TSCA section 5. *J Envir Sci Hlth, Envir Carcino Revs* 1987 ; C5(1) : 29-71.
37. Smart PL, Laidlaw IMS. An evaluation of some fluorescent dyes for water tracing. *Water Resour Res* 1977 ; 13(1) : 15-33.
38. Arbeitskreis Human- und oekotoxikologische Bewertung von Markierungsmitteln in Gewässern. *Grundwasser* 1997 ; 2 : 61-4.
39. Behrens H, Beims U, Dieter H, et al. Toxicological and ecotoxicological assessment of water tracers. *Hydrogeol J* 2001 ; 9 : 321-5.