

# Série de la Protection de l'environnement



Document d'orientation sur  
la mesure de la précision  
des essais de toxicité sur  
sédiment de contrôle dopé  
avec un produit toxique de  
référence

# **Document d'orientation sur la mesure de la précision des essais de toxicité sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence**

**Section de l'élaboration des méthodes et des applications  
Centre de technologie environnementale  
Environnement Canada**

**Rapport SPE 1/RM/30  
Septembre 1995**

**DONNÉES DE CATALOGUE AVANT PUBLICATION (CANADA)**

Ecological Services for Planning Ltd.

Vedette principale au titre:

Document d'orientation sur la mesure de la précision  
des essais de toxicité sur sédiment de contrôle dopé  
avec un produit toxique de référence

(Rapport SPE ; 1/RM/30)

Publ. aussi en anglais sous le titre : Guidance document  
on measurement of toxicity test precision using control  
sediments spiked with a reference toxicant.

ISBN 0-660-95241-6

N° de cat. EN49-24/1-30F

1. Essai de toxicité –Méthode.
2. Sédiments marins – Analyse
3. Écologie des eaux douces.
4. Qualité de l'eau – Mesures – Méthode.
- I. Canada. Direction de l'avancement des technologies  
environnementales.
- II Canada. Environnement Canada.
- III. Titre.
- IV Coll. : Rapport (Canada. Environnement Canada);  
SPE 1/RM/30

QD79.S4E3614

363.73'942'01 C96-980109-2

## **Commentaires**

---

Les personnes qui désirent faire part de leurs commentaires sur la teneur du présent rapport sont priées de les adresser à :

Richard Scroggins  
Section de l'élaboration des méthodes et des applications  
Centre de technologie environnementale  
Environnement Canada  
335 River Road  
Ottawa (Ontario)  
K1A 0H3

This publication is also available in English under the title "Guidance document on measurement of toxicity test precision using control sediments spiked with a reference toxicant", from:

Environmental Protection Publications  
Environmental Technology Advancement Directorate  
Environment Canada  
Ottawa, Ontario  
K1A 0H3

## **Avis de révision**

---

Le présent document a été révisé par le personnel de la Direction de l'avancement des technologies environnementales, Environnement Canada, et sa publication a été approuvée. Cette approbation ne signifie pas nécessairement que le contenu du document reflète les opinions et politiques d'Environnement Canada. La mention d'appellations commerciales ou de produits disponibles sur le marché ne constitue pas une recommandation ni une approbation quant à l'emploi de ces produits.



## Résumé

---

*Le présent rapport renferme des conseils et des recommandations sur la sélection d'un produit toxique de référence, les méthodes de dopage et l'utilisation d'un sédiment de contrôle afin d'évaluer les changements de sensibilité des organismes étudiés à des produits toxiques et de mesurer la précision des essais de toxicité sur sédiment dopé tant intralaboratoire qu'interlaboratoire. Un essai de référence dans lequel un sédiment de contrôle est dopé avec un produit toxique de référence peut être utilisé dans un ou plusieurs laboratoires afin de mesurer la précision des essais de toxicité sur sédiment dopé et de mettre en évidence les différentes réactions, dans le temps, des organismes exposés à des contaminants associés aux sédiments. Il s'agit là d'un aspect d'un programme permanent d'assurance et de contrôle de la qualité pour les essais de toxicité sur sédiment.*

*Quatre produits toxiques de référence, soit le cadmium, le cuivre, le pentachlorophénate et le fluoranthène, ont été examinés dans le processus de sélection parce que ce sont les seuls produits chimiques pour lesquels il existe de données publiées quant à leur emploi pour le dopage des sédiments et à leur utilisation dans des emplois de toxicité sur sédiment. Pour les essais sur sédiment dulcicole, le fluoranthène et le cuivre (sous forme de chlorure ou de sulfate) sont recommandés comme produits toxiques de référence organique et inorganique, respectivement. Ces recommandations reflètent les données courantes et n'empêchent aucunement le recours à d'autres produits toxiques de référence à mesure que des données supplémentaires deviennent disponibles.*

*Les organismes utilisés dans un essai sur sédiment dopé avec un produit toxique de référence devraient avoir été l'objet de modes opératoires complets de prélèvement et de conservation ou d'élevage en laboratoire, de même que de modes opératoires normalisés d'exécution des essais de toxicité sur sédiment entier.*

*Le sédiment de contrôle à doper devrait donner lieu à un niveau acceptable de survie des organismes étudiés durant tout l'essai. À cause du manque d'information précise, un type de sédiment (p. ex., prélevé sur le terrain, formulé ou artificiel) n'est pas recommandé plus qu'un autre. Il est proposé d'utiliser un sédiment prélevé sur le terrain lorsque les organismes étudiés manifestent une marge restreinte de tolérance aux caractéristiques des sédiments; toutefois, dans la plupart des cas, les sédiments artificiels ou formulés sont plus commodes s'il s'agit d'un essai de produit toxique de référence. La qualité du sédiment de contrôle devrait être uniforme et celui-ci devrait être préparé et additionné exactement de la même façon pour chaque essai. Les méthodes d'addition par voie humide sont recommandées lorsque les sédiments sont additionnés de produits toxiques de référence. Des méthodes générales sont décrites pour les techniques de rotation des sédiments par voie humide, de boue liquide et de suspension des sédiments. Peu importe la méthode utilisées pour l'addition du sédiment, l'homogénéité du mélange produit chimique-sédiment devrait être vérifiée avant l'exécution d'un essai de toxicité au moyen d'un produit toxique de référence. Idéalement, le produit chimique qui se trouve dans le sédiment devrait être en état*

*d'équilibre "permanent" avec l'eau interstitielle. S'il n'est pas possible de déterminer la présence d'un équilibre "permanent", le temps de mélange, le temps de contact, le ou les temps de sédimentation et le temps écoulé entre l'addition du produit chimique au sédiment et l'addition de l'eau sus-jacente et (ou) des organismes étudiés doivent être signalés. Ces temps sont en voie de normalisation pour ce qui est des essais menés avec un sédiment formulé.*

## Abstract

---

*This report provides guidance and recommendations for the selection of a reference toxicant, spiking procedures, and use of control sediments for assessing changes in sensitivity of the test organisms to toxicants and measuring precision of both intra- and inter-laboratory spiked-sediment toxicity tests. A reference test, in which a control sediment is spiked with a reference toxicant, may be used within a laboratory or among laboratories to measure the precision of spiked-sediment toxicity tests and to detect differences in the responses of test organisms exposed to sediment-associated contaminants over time. This constitutes one component of a continuous quality assurance/quality control program for sediment toxicity tests.*

*Four potential reference toxicants (cadmium, copper, pentachlorophenate, and fluoranthene) were considered in the selection process because these were the only chemicals with published information regarding sediment spiking and use in sediment toxicity tests. For tests using freshwater sediment, fluoranthene and copper (as either copper sulphate or copper chloride) are recommended as organic and inorganic reference toxicants, respectively. These recommendations reflect the information currently available and do not preclude the use of other chemicals as reference toxicants as more information becomes available.*

*Test organisms used in spiked-sediment reference toxicant test (SSRTT) should have well developed procedures for collection and maintenance or culture in the laboratory, as well as, standardized procedures for conducting toxicity tests with whole sediment.*

*Control sediments to be spiked should enable an acceptable level of survival of test organisms for the duration of the test. Due to lack of specific information, no one type of sediment (e.g., field-collected, formulated, or artificial) is recommended over another. Field-collected sediments are suggested for test organisms with a narrow tolerance range of sediment characteristics; however, for the most part, artificial or formulated sediments are more practical for use in a reference toxicant test. The control sediment should be of consistent quality and should be prepared and spiked in exactly the same manner for spiking sediments with reference toxicants.*

*General procedures are described for the wet-sediment rolling, slurry, and sediment suspension techniques. Regardless of the method used to spike the sediment, the homogeneity of the chemical-sediment mixture should be verified before conducting a toxicity test with a reference toxicant. Ideally, the chemical in the sediment should be in a “steady state” equilibrium with the pore water. In the event that a “steady state” equilibrium cannot be determined, the mixing time, contact time, settling time(s), and the time between the addition of the chemical to the sediment and the addition of the overlying water and/or test organisms must be reported. These times are currently being standardized for tests with formulated sediment.*



## Avant-propos

---

*Ce document d'orientation sur la mesure de la précision des essais sur sédiments de contrôle dopés avec un produit toxique de référence fait partie d'une série de manuels d'orientation et de méthodes recommandées d'essais de toxicité biologique, mis au point par Environnement Canada en vue de la mesure et de l'analyse des effets biologiques de substances toxiques dans des milieux dulcicoles, estuariens et marins.*

*L'orientation et les méthodes recommandées ont été évaluées par Environnement Canada. On préconise l'emploi de ces méthodes :*

- dans les laboratoires d'Environnement Canada et des provinces qui étudient la toxicité en milieu aquatique et dans les sédiments;*
- pour les essais confiés par Environnement Canada à des laboratoires de l'extérieur ou demandés à des entreprises;*
- dans les situations où l'on ne dispose pas d'instructions plus précises, comme celles que prévoient les règlements;*
- comme fondement à des instructions très explicites susceptibles d'être exigées dans un protocole réglementaire ou une méthode de référence normalisée.*

*L'objet des rapports de la collection est d'orienter les utilisateurs et de faciliter l'emploi de méthodes cohérentes, bien adaptées et complètes pour l'obtention de données sur les effets toxiques d'échantillons de produits chimiques, d'effluent, d'élutriats, de lixiviats, de milieux récepteurs ou de sédiments. Les recommandations et les méthodes décrites dans le présent manuel d'orientation en vue de la sélection d'un produit toxique de référence et de l'utilisation d'un sédiment de contrôle servent de fondement à la mise au point d'un essai dans lequel un sédiment est dopé avec un produit toxique de référence. On y trouve des recommandations sur les méthodes de dopage; toutefois, dans la réalité, le déroulement de l'essai est fonction de la méthode d'essai biologique utilisée pour une espèce particulière d'organisme. Le présent rapport renferme beaucoup de conseils, mais les lecteurs sont invités à consulter les travaux d'origine pour connaître le détail des méthodes.*

## Table de matières

---

Résumé .....	v
Abstract .....	vii
Avant-propos .....	viii
Liste des figures .....	xi
Liste des tableaux .....	xi
Glossaire .....	xii
Remerciements .....	xviii
 <i>Section 1</i>	
<b>Introduction</b> .....	1
1.1 Contexte .....	1
1.2 Utilisation de produits toxiques de référence dans les essais de toxicité sur sédiment .....	2
1.3 Raison d'être .....	2
 <i>Section 2</i>	
<b>Sélection des produits toxiques de référence</b> .....	4
2.1 Produit(s) toxique(s) de référence recommandé(s) .....	4
2.2 Sélection initiale des produits toxiques de référence .....	4
2.3 Analyse des critères de sélection .....	6
2.3.1 Homogénéité du mélange sédiment-produit chimique .....	6
2.3.2 Temps d'équilibre du produit toxique de référence .....	7
2.3.3 Stockage des sédiments de contrôle dopés .....	9
2.3.4 Efficacité des produits toxiques de référence .....	10
2.3.5 Analyse et risque potentiel .....	10
 <i>Section 3</i>	
<b>Sélection des sédiments de contrôle à doper avec un produit toxique de référence</b> .....	11
3.1 Sédiment(s) de contrôle recommandé(s) .....	11
3.2 Prélèvement sur le terrain des sédiments de contrôle .....	12
3.3 Préparation d'un sédiment de contrôle artificiel ou formulé .....	14
 <i>Section 4</i>	
<b>Organismes destinés à des essais sur sédiment dopé avec un produit toxique de référence</b> .....	16
 <i>Section 5</i>	
<b>Acquisition et manipulation des produits chimiques</b> .....	17
 <i>Section 6</i>	
<b>Méthodes universelles d'exécution des essais de produit toxique de référence au moyen d'un sédiment de contrôle</b> .....	18
6.1 Propriétés chimiques, étiquetage et stockage .....	18

6.2	Préparation d'un sédiment dopé .....	18
6.2.1	Manipulation prédopage d'un sédiment prélevé sur le terrain .....	18
6.2.2	Méthodes de dopage des sédiments .....	20
6.2.3	Mélange d'un sédiment dopé .....	23
6.3	Confirmation chimique du dopage d'un sédiment et détermination des concentrations d'exposition .....	25
6.4	Préparation des mélanges expérimentaux .....	26
6.5	Fréquence des essais .....	26
6.6	Observations et mesures .....	27
6.7	Résultats des essais et calculs .....	27

### *Section 7*

<b>Cartes de contrôle</b> .....	31
7.1 Préparation et mise à jour des cartes de contrôle .....	31
7.2 Interprétation des données .....	33
7.2.1 Limites de contrôle de 95 % .....	33
7.2.2 Limites de confiance .....	34
7.2.3 Tendances des données .....	34
7.2.4 Formation des nouveaux techniciens .....	35

### *Section 8*

<b>Tenue des dossiers et compte rendu des données</b> .....	36
---	----

### *Section 9*

<b>Recherches futures</b> .....	38
---------------------------------	----

<b>Références</b> .....	40
-------------------------	----

### *Annexe A*

<b>Personnes ayant fourni des renseignements dans le cadre des essais de produit toxique de référence sur sédiment de contrôle dopé</b> .....	48
---	----

### *Annexe B*

<b>Séries logarithmiques de concentrations convenant à des essais de toxicité</b> ...	49
---	----

### *Annexe C*

<b>Renseignements types fournis sur une fiche signalétique</b> .....	50
--	----

### *Annexe D*

<b>Sédiments formulés : résumé des recherches en cours</b> .....	51
--	----

### *Annexe E*

<b>Devenir du cuivre et du cadmium ajoutés à l'eau de mer naturelle</b> .....	54
---	----

## **Liste des figures**

---

- 1 Estimation de la concentration létale médiane par la représentation graphique de la mortalité sur papier de probabilité logarithmique ..... 29
- 2 Exemple d'une carte de contrôle ..... 32

## **Liste des tableaux**

---

- 1 Principaux critères de sélection d'un produit toxique de référence pour les essais de référence intralaboratoires sur sédiment dopé ..... 5
- 2 Critères de sélection d'un sédiment de contrôle ..... 13

## Glossaire

---

Nota: Les définitions, qui pourraient ne pas convenir dans un autre contexte, valent dans le cadre du présent rapport.

### Auxiliaires modaux

*Devrait (devraient)* et la forme impersonnelle *il faudrait* expriment une recommandation ou une marche à suivre dans la mesure du possible.

*Doit (doivent)* exprime l'obligation absolue.

*Peut (peuvent)* exprime l'autorisation ou la capacité de faire quelque chose, selon le contexte, ou encore une possibilité ou une aptitude.

*Pourrait (pourraient)* exprime la possibilité que quelque chose existe ou se produise.

### Termes techniques généraux

*Assurance de la qualité (AQ)* - Ensemble des moyens administratifs et techniques (p. ex., planification, contrôle, évaluation, rapports, correctifs) visant à faire en sorte qu'un produit final soit d'une qualité connue ou fiable.

*Carte de contrôle* - Carte des valeurs de toxicité moyenne préparée en vue des essais de produits toxiques de référence. Les résultats d'une série d'essais consécutifs sont tracés sur un diagramme dont l'abscisse indique la date des essais et l'ordonnée, la concentration correspondant à un effet précis (p. ex., CL50, CE50). La carte indique également la variabilité prévue des résultats d'essai.

*Coefficient de variation (CV)* - Écart type (ET) d'un échantillon exprimé sous forme de pourcentage de la valeur moyenne ( $100 \text{ ET} / \text{ } \text{}$ ).

*Contrôle* - Traitement reproduisant l'ensemble des conditions et facteurs qui pourraient influencer sur les résultats d'une enquête ou d'une étude, à l'exception de la condition particulière faisant l'objet de cette étude. Dans un essai de toxicité aquatique, le contrôle (ou témoin) doit reproduire toutes les conditions du ou des traitements d'exposition tout en étant exempt, essentiellement, de la substance à expérimenter (p. ex., des traces peuvent être présentes). Le contrôle est utilisé pour établir l'absence de toxicité mesurable attribuable aux conditions de base de l'essai (p. ex., granulométrie, température, état de santé des organismes soumis à l'essai ou effets dus à la manipulation de ces organismes). Dans le cas d'un essai sur sédiment de contrôle non dopé constitue le témoin de l'expérience. Si un véhicule ou entraîneur autre que l'eau (p. ex., un solvant comme l'acétone) est utilisé pour ajouter le produit toxique de référence au sédiment, on prépare un contrôle dopé avec le solvant en plus du contrôle non dopé.

*Contrôle de la qualité (CQ)* - Ensemble de techniques et moyens de mesure et d'évaluation de la qualité des données et, le cas échéant, des correctifs à appliquer lorsque les objectifs de qualité des données ne sont pas atteints.

*Dopage* - Addition d'une quantité connue d'un produit chimique à un sédiment de contrôle non contaminé. Les sédiment est ensuite bien mélangé pour que le produit chimique soit réparti également.

*Homogénéiser* - Mélanger jusqu'à ce qu'une consistance et une composition uniformes soient atteintes.

### **Termes utilisés pour les substances expérimentales**

*Eau d'essai* - Eau recouvrant la couche de sédiment dans les récipients d'essai. On utilise aussi cette eau, au besoin, pour la manipulation des sédiments (p. ex., pour le tamisage par voir humide), de même que comme eau de dilution/de contrôle pour les essais hydriques menés avec des produits toxiques de référence.

*Eau de dilution/de contrôle* - Eau servant à préparer des solutions d'essais à l'aide de concentrations précises d'un produit toxique de référence ou d'autres produits chimiques en vue d'une exposition hydrique des organismes soumis à l'essai ou du dopage du sédiment. L'eau de dilution sert de contrôle dans les essais de toxicité hydriques, ou sert d'eau sus-jacente dans les essais de toxicité sur sédiments.

*Eau de porosité* - Synonyme d'«eau interstitielle».

*Eau désionisée* - Eau douce que l'on a purifiée pour en extraire les ions en solution en la faisant passer à travers des colonnes de résine et (ou) un système d'osmose inverse.

*Eau distillée* - Eau ayant été traitée dans un appareil de distillation de verre borosilicaté, de verre de quartz ou d'un autre matériau, pour la débarrasser de ses impuretés non viables.

*Eau interstitielle* - Eau occupant l'intervalle entre les particules de sédiment. La quantité d'eau interstitielle qui se trouve dans un sédiment est le rapport entre la masse de l'eau dans le sédiment et la masse du sédiment entier exprimé sous forme de pourcentage. Synonyme : «eau de porosité».

*Eau non contaminée* - Eau de mer ou eau douce exempte de produits toxiques à des concentrations provoquant des désordres observables chez les organismes soumis à l'essais ou réduisant leur survie.

*Élutriat* - Solution aqueuse obtenue après l'addition d'eau à des déchets solides (p. ex., sédiment, stériles, boues de forage, déblais de dragage), par brassage du mélange puis par centrifugation, filtration ou décantation du surnageant.

*Essai de référence* - Essai de toxicité sur sédiment de contrôle est dopé avec un produit toxique de référence, ou essai de toxicité hydrique dans lequel un produit toxique de référence est ajouté à l'eau de dilution/de contrôle.

*Produit chimique* - tout élément, composé, formule ou mélange de substances chimiques qui pourrait être associé à un sédiment ou à de l'eau ou y être mélangé ou ajouté.

*Produit toxique de référence* - Produit chimique titré servant à évaluer la sensibilité des organismes de façon à établir la fiabilité des données de toxicité obtenues pour une matière expérimentale. Dans la

plupart des cas, un essai de toxicité mené avec un produit toxique de référence sert à déterminer la sensibilité des organismes au moment où la matière expérimentale est évaluée et à établir la précision, dans le temps, des résultats obtenus par le laboratoire. L'essai de toxicité au moyen d'un produit toxique de référence est exécuté de la même manière qu'un essai de toxicité dont la précision suscite de l'intérêt.

*Sédiment* - Ensemble de particules naturelles qui ont été transportées et déposées dans l'eau. Ce terme peut également décrire un substrat préparé artificiellement ou formulé à partir de particules et dans lequel les organismes soumis à l'essai peuvent s'enfouir.

*Sédiment d'essai* - Échantillon de sédiments prélevé sur le terrain, à un endroit que l'on estime être contaminé par au moins un produit chimique et destiné à un essai biologique. Parfois, le terme peut désigner tout échantillon de sédiment (y compris un sédiment de contrôle ou de référence) utilisé dans un essai.

*Sédiment de contrôle* - Sédiment ou substrat non contaminé, qui peut être naturel, artificiel ou formulé, dont la composition physicochimique est connue et dont la qualité est uniforme. Un sédiment de contrôle ne doit pas contenir de concentrations de contaminants causant un stress observable chez les organismes soumis à l'essai ou réduisant leur survie (p. ex., les traces peuvent être présentes). Un sédiment de contrôle permet d'interpréter les données tirées des essais de toxicité menés à l'aide d'un ou de plusieurs sédiments d'essai et sert également de sédiment de base dans les méthodes de dopage.

*Sédiment de contrôle dopé* - Sédiments de contrôle auquel une quantité précise de produit toxique de référence a été ajoutée afin d'obtenir une concentration particulière de ce produit dans le sédiment. Ce sédiment peut servir de contrôle positif pour déterminer si, dans le temps, les organismes soumis à l'essai réagissent de façon uniforme à une concentration précise d'un produit toxique de référence.

*Sédiment de référence* - Échantillon de sédiment entier prélevé en un endroit qui se trouve à proximité du lieu de prélèvement d'un sédiment d'essai (c.-à-d., la même masse d'eau). Dans les essais de toxicité, un sédiment de référence peut servir d'indicateur des conditions locales à l'exclusion du ou des contaminants particuliers qui peuvent être présents dans le sédiment d'essai. Un sédiment de référence est souvent employé pour les essais biologiques parce que ses caractéristiques physico-chimiques (p. ex., tailles des particules, teneur en matières organiques totales) sont semblables à celles du ou des sédiments d'essai.

*Sédiment dopé* - Sédiment auquel on a ajouté une matière expérimentale, comme un produit chimique, un mélange de produits chimiques, de la boue de forage, un déblai de dragage contaminé ou de la vase, et qui a ensuite été mélangé soigneusement à des fins expérimentales.

*Sédiment entier* - Sédiment intact, y compris l'eau interstitielle qui y est associée, qui n'a pas été tamisé. Il ne s'agit pas d'une forme ni d'un dérivé du sédiment, comme un éluviat ou un sédiment remis en suspension.

*Sédiment formulé* - Substrat obtenu par le mélange de particules naturelles en fonction d'une formulation, de façon à produire un sédiment ayant des caractéristiques particulières et dans lequel

les organismes soumis à l'essai peuvent s'enfouir. Il peut servir de sédiment de contrôle dans les essais de toxicité effectués avec des produits toxiques de référence.

*Sédiment non contaminé* - Sédiment exempt de matières toxiques à des concentrations provoquant des désordres observables chez les organismes soumis à l'essai ou réduisant leur survie.

*Sédiment tamisé par voie humide* - Sédiment de contrôle qui a été tamisé à l'aide d'une eau de dilution dont le degré d'aération a été réglé de façon à obtenir une saturation égale ou supérieure à 90 % et qui a été rajusté en fonction de la température et de la salinité souhaitées (si le sédiment d'essai est marin ou estuarien). On devrait laisser reposer au moins 12 h (c.-à-d. pendant la nuit) le mélange de sédiment tamisé et d'eau de dilution, avant de décanter et d'éliminer cette dernière.

*Solution mère* - Solution aqueuse concentrée d'un produit toxique de référence. Des quantités mesurées de solution mère sont ajoutées à un entraîneur (p. ex., l'acétone) ou à une eau de dilution afin de préparer les concentrations requises de solution d'essai en vue du dopage des sédiments.

*Substance* - Matière particulière ayant des propriétés plus ou moins uniformes.

*Substrat artificiel* - substrat constitué d'une ou de plusieurs substances synthétiques dont la consistance et la composition sont relativement uniformes et qui, dans les essais de toxicité, sert surtout à réduire les effets de stress liés aux essais de toxicité purement hydriques menés avec des organismes associés aux sédiments. Ce terme est souvent utilisé comme synonyme de sédiment formulé, ce qui n'est pas le cas dans le présent document d'orientation.

## **Termes de toxicologie**

*Aigu* - Qui a lieu dans un bref délai (secondes, minutes, heures ou quelques jours) par rapport à la durée de vie des organismes soumis à l'essai.

*CE50* - Concentration efficace médiane représentant la concentration d'une matière dans un sédiment (mg/kg ou pourcentage de la masse) ou dans l'eau (mg/L) qui est considérée comme la cause d'un effet toxique subléthal observable chez 50 % des organismes soumis à l'essai. La CE50 (et sa limite de confiance de 95 %) est normalement dérivée par l'analyse statistique d'une réaction subléthale observable (p. ex., émergence ou réenfouissement dans le sédiment de contrôle) pour différentes concentrations expérimentales, après une période d'exposition donnée. La durée de l'exposition doit être précisée (p. ex., CE50 après 10 jours).

*Clp* - Concentration inhibitrice pour un effet donné exprimé sous forme de pourcentage. Elle représente une estimation ponctuelle de la concentration d'une matière expérimentale qui provoque un pourcentage donné d'atteinte à une fonction biologique quantitative, comme la croissance de l'organisme soumis à l'essai. Ainsi, une CI25 pourrait être la concentration considérée comme la cause d'une réduction de 25 % de la croissance des larves de moucherons soumises à l'essai, par rapport aux larves de contrôle. Ce terme devrait être employé pour tout essai de toxicité visant à mesurer un changement d'évolution, comme la reproduction, la croissance ou la respiration. (Le terme CE50 est réservé aux mesures de type tout ou rien, c.-à-d. le nombre de sujets chez lesquels un effet particulier est observé).



*CL50* - Concentration létale médiane représentant la concentration d'une matière dans un sédiment (mg/kg) ou dans l'eau (mg/L) qui est considérée létale chez 50 % des organismes soumis à l'essai. La CL50 (et sa limite de confiance de 95 %) est normalement dérivée par l'analyse statistique des mortalités survenues à différentes concentrations expérimentales, après une période d'exposition donnée. La durée de l'exposition doit être précisée (p. ex., CL50 après 96 h).

*CMEO* - Concentration minimale avec effet observé. Il s'agit de la concentration la plus faible d'une matière expérimentale à laquelle des organismes sont exposés et qui provoque des effets nocifs chez ces organismes. Les effets sont relevés par l'observateur et sont statistiquement significatifs.

*Concentration à effet de seuil* - Moyenne géométrique de la CSEO et de la CMEO. Valeur chronique ou valeur subchronique sont des termes qui peuvent convenir, suivant la durée de l'exposition prévue dans l'essai.

*CSEO* - Concentration sans effet observé. Il s'agit de la concentration la plus élevée d'une matière expérimentale à laquelle des organismes sont exposés, qui ne cause aucun effet nocif observable et statistiquement significatif.

*Effet sublétal* - Effet nocif pour un organisme soumis à l'essai, mais en deçà du niveau qui entraîne directement la mort au cours de l'essai.

*Essai avec renouvellement de l'eau* - Essai dans lequel l'eau qui se trouve dans les récipients d'essai est renouvelée par un fréquent apport intermittent.

*Essai de toxicité* - Essai permettant de déterminer l'effet d'une matière sur un groupe d'organismes choisis d'une même espèce (p. ex., *Rhepoxynius abronius*), dans des conditions bien définies. Un essai de toxicité sert normalement à mesurer : soit a) la proportion des organismes atteints (tout ou rien), soit b) l'intensité de l'effet observé (gradué ou quantitatif), après l'exposition à une matière expérimentale donnée (p. ex., un échantillon de sédiment).

*Essai de toxicité en phase liquide* - Essai de toxicité dans lequel les organismes sont exposés à un éluat de sédiment ou à de l'eau interstitielle en l'absence de sédiment.

*Essai de toxicité hydrique* - Essai de toxicité dans lequel les organismes sont exposés à des concentrations précises d'un produit toxique dans de l'eau de dilution uniquement, en l'absence de sédiment.

*Essai de toxicité sans renouvellement* - Essai de toxicité pendant lequel l'eau ou les solutions d'essai ne sont pas renouvelées.

*Essai sur sédiment dopé avec un produit toxique de référence (ESDPTR)* - Essai de toxicité sur sédiment entier dans lequel les organismes sont exposés à un produit toxique de référence ajouté à un sédiment de contrôle en une série de concentrations précises. Aux fins du présent rapport, ce terme est synonyme d'essai de référence.

*Létal* - qui provoque la mort par action directe ou indirecte du produit chimique utilisé dans l'essai biologique. Par exemple, la mort des amphipodes est définie comme la cessation de mouvement après une légère stimulation ou de toute autre activité (p. ex., absence de tremblement des pléopodes).

*Résultat* - Variable(s) (p. ex., le délai, la réaction des organismes soumis à l'essai) indiquant la fin d'un essai. Aussi, mesure(s) ou valeur(s) dérivée(s) caractérisant les résultats de l'essai (p. ex., CE50, CL50).

*Subléta* - Qui est nocif pour l'organisme soumis à l'essai, mais en-deçà du niveau qui entraîne directement la mort au cours d'un essai.

*Toxicité* - Capacité propre d'une matière de provoquer des effets nocifs chez l'organisme exposé.

*Toxicité aiguë* - Effet nocif (léta

*Toxicité chronique* - Effets à long terme liés à des changements de métabolisme de croissance, de reproduction, d'aptitude à la survie, etc.

## Remerciements

---

*Le présent document a été rédigé par Gladys Stephenson (Ecological Services for Planning Ltd., Guelph, Ontario). Il se fonde sur des rapports et documents d'orientation qui décrivent des méthodes et des technologies utilisées dans un contexte semblable, sur les données scientifiques publiées les plus récentes et sur les données fournies par des membres de la communauté scientifique qui mènent des recherches pertinentes. En leur qualité de responsables scientifiques, L. Porebski et R. Scroggins (SPE, Environnement Canada) ont fourni une orientation et des conseils techniques tout au long des travaux. Soulignons également la contribution de P. Murdoch, A. Murdoch, K.E. Day et J. Osborne (SPE, Environnement Canada), tous membres du Sous-comité technique spécial. L'assistance de Roman Lanno dans la préparation d'une version antérieure du présent document d'orientation est aussi reconnue.*

*Nous remercions les membres du Groupe intergouvernemental sur la toxicité aquatique, du Comité consultatif régional sur l'immersion de déchets en mer (RODAC) et du Comité des gestionnaires des laboratoires (CGL) (SPE, Environnement Canada), qui ont participé activement à l'examen de la version initiale du document. Des conseils particulièrement utiles et une expertise technique ont été apportés par S. Yee (SPE, région du Pacifique et du Yukon, Environnement Canada, West Vancouver, Colombie-Britannique) et par K. Doe et S. Wade (Service de la conservation de l'environnement, région de l'Atlantique, Environnement Canada, Dartmouth, Nouvelle-Écosse).*

*Nous remercions également les membres du Sous-comité technique, qui ont participé activement à l'élaboration et à l'examen du présent rapport. Nous tenons à exprimer notre reconnaissance aux personnes dont le nom figure à l'annexe A et à celles mentionnées ci-dessous, pour leurs nombreuses contributions techniques et pour l'information qu'elles ont fournie.*

*G. Ankley (USEPA, Duluth, MN), G. Atkinson (Direction des politiques scientifiques, Environnement Canada, Ottawa, Ont.), S. Bay (Southern California Coastal, Long Beach, CA), D. Bedard [Direction de l'élaboration des normes, ministère de l'Environnement et de l'Énergie de l'Ontario (MOEE), Toronto, Ont.], R. Burgess et J. Hetsche (USEPA, Narragansett, RI), G.A. Burton (Wright State University, Dayton, OH), R. Eganhouse (Geological Survey, U.S. Department of Interior, Reston, VA), R. Gambrell (Louisiana State University, Baton Rouge, LA), D. Hansen (USEPA, Narragansett, RI), R. Hesselin (Ministère des Pêches et des Océans, Winnipeg, Man.), C. Ingersoll et M. Nelson (National Biological Survey, Columbia, MO), K. Keenleyside (Direction de l'évaluation et de l'interprétation, Environnement Canada, Ottawa, Ont.), G. Krantzberg (Direction de l'élaboration des normes, MEEQ, Toronto, Ont.), P. Landrum (NOAA, Great Lakes Environmental Laboratory, Ann Arbor, MI),*

*S. Lorenzato (State Water Resources Control Board, Sacramento, CA), D. McLeay (McLeay Associates Ltd., West Vancouver, C.-B.), J. Percival (Commission géologique du Canada, Ottawa, Ont.), M. Redmond, J. Jones, D. Schultz et R. Swartz (USEPA/Asci Corporation, Newport, OR), J. Rodgers (University of Mississippi, University, MI), B. Suedel (E.A. Engineering, Science & Technology, Inc., Hunter Valley, MD) et J. Skei (Institut norvégien de la recherche hydrologique, Oslo, Norway).*

*Les remarques et suggestions formulées par les examinateurs de la version définitive ont été vivement appréciées :*

*G. Atkinson (Direction des politiques scientifiques, Environnement Canada, Ottawa, Ont.), D. Bedard (Direction de l'élaboration des normes, MOEE, Toronto, Ont.), M. Buchman (NOAA, Office of Ocean Resources Conservation and Assessment, Seattle, WA), G.A. Burton (Wright State University, Dayton, OH), J.W. Gorsuch (Eastman Kodak Company, Rochester, NY), C.W. Hickey (NIWA Ecosystems, Hamilton, Nouvelle-Zélande), M. Hinman (Biomedical Sciences, Inc., East Millstone, NJ), C. Ingersoll (National Biological Survey, Columbia, MO), K. Keenleyside (Direction de l'évaluation et de l'interprétation, Environnement Canada, Ottawa, Ont.), K.J.M. Kramer (TNO Environmental Research and Energy, Den Helder, Pays-Bas), P. Landrum (NOAA, Great Lakes Environmental Laboratory, Ann Arbor, MI), L. Maltby et C. Naylor (University of Sheffield, Sheffield, Royaume-Uni), G. Pagano (Istituto Nazionale Per Lo Studio E La Curadei Tumori, Naples), J. Percival (Commission géologique du Canada, Ottawa, Ont.), W. Windle (Direction de l'évaluation des produits chimiques commerciaux, Environnement Canada, Ottawa, Ont.) et P.V. Winger (National Biological Survey, University of Georgia, Athens, GA).*

*Le financement et l'orientation technique qui ont permis de préparer le présent rapport ont été fournis par la Division du milieu marin, Bureau de la gestion des déchets, Environnement Canada, Ottawa par l'entremise de L. Porebski et J. Osborne, et par la Direction de l'avancement des technologies environnementales, SPE, Environnement Canada, Ottawa, par l'entremise de R. Scroggins.*

## **Introduction**

### **1.1 Contexte**

Environnement Canada met au point, pour les laboratoires canadiens, des méthodes d'exécution d'essais de toxicité au moyen d'échantillons de sédiment, en vue de l'évaluation et de la gestion des substances potentiellement toxiques présentes dans les sédiments dulcicoles, estuariens ou marins. Les essais de toxicité sur sédiment entier sont l'une des nombreuses méthodes pouvant servir à évaluer la toxicité des sédiments. Il existe des méthodes d'essai normalisés ou des documents d'orientation se rapportant aux essais biologiques sur sédiment entier pour un certain nombre d'organismes aquatiques (Environnement Canada, 1992, 1996a, 1996b; ASTM, 1994a,b, 1995; USEPA, 1994a,b).

Les résultats intralaboratoires et interlaboratoires de ces essais peuvent varier à cause des différentes caractéristiques des sédiments, des méthodes de manipulation des sédiments, de la qualité de l'eau de dilution, des antécédents génétiques, de la sensibilité et du stade de développement des organismes soumis aux essais, de la formation et de l'expérience des techniciens, etc. Des essais de toxicité hydriques ont été menés avec des produits toxiques de référence par les laboratoires dans le cadre de programmes d'assurance et de contrôle de la qualité (AQ/CQ) applicables aux essais de toxicité tant hydriques que sur des résultats comparables pouvaient être obtenus au sein des laboratoires et entre les laboratoires (Environnement Canada, 1990). Compte tenu de la facilité relative d'exécution d'un essai de toxicité hydrique, de la vitesse relative d'obtention des résultats et du manque d'orientation en ce qui concerne l'exécution des essais sur sédiment de contrôle dopé avec un

produit toxique de référence, les essais de toxicité hydriques menés avec des produits toxiques de référence sont utilisés depuis longtemps concurremment aux essais de toxicité sur sédiment. Toutefois, comparativement aux essais de toxicité sur sédiment, les essais uniquement hydriques ne permettent pas d'évaluer les effets possibles du sédiment sur les organismes étudiés et ne constituent pas un moyen adéquat de mesurer ou d'évaluer la sensibilité des organismes dans des essais dont le résultat se rapporte à la croissance. Ces effets pourraient constituer une source de variabilité imprévisible dans les essais. Par conséquent, les essais de toxicité hydriques pourraient être jugés inadéquats comme essais de référence pour les essais biologiques de toxicité sur sédiment entier, surtout lorsque le résultat de ces derniers essais se rapporte à la croissance des organismes étudiés. Entre autres composantes de leur AQ, les laboratoires devront mener des essais de référence sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence afin de surveiller la précision intralaboratoire et interlaboratoire des essais sur sédiment dopé.

Le présent rapport porte expressément sur les exigences d'une méthode normalisée d'exécution d'un essai de référence sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence; cet essai de référence sert à mesurer la précision intralaboratoire des essais de toxicité sur sédiment entier et à surveiller l'état de santé des organismes étudiés et leur sensibilité relative, dans le temps, à des contaminants associés aux sédiments. L'essai de référence peut également servir à surveiller la précision interlaboratoire des essais. Bien que les méthodes de sélection d'un produit toxique de référence et de préparation

d'un sédiment de contrôle dopé soient présentées ci-après, dans la réalité, les modes opératoires des essais de toxicité seront identiques à ceux précisés dans la méthode d'essai biologique décrite pour chaque espèce d'organisme étudiée.

## **1.2 Utilisation de produits toxiques de référence dans les essais de toxicité sur sédiment**

Un essai sur sédiment dopé avec un produit toxique de référence (ESDPTR) sert principalement à surveiller, dans le temps, la précision interlaboratoire des essais de toxicité sur sédiment dopé menés avec une espèce donnée, de même qu'à veiller à ce que l'état de santé et la sensibilité des organismes soumis à l'essai soient adéquats. Dans l'exécution d'un ESDPTR, un sédiment de contrôle dopé sert alors à exécuter un essai de toxicité au moyen d'un organisme pour lequel des méthodes normalisées ont été mises au point. Les résultats de chaque essai de toxicité sont comparés à des données d'essai antérieures afin de déterminer si la plage de variabilité est acceptable. Les données qui s'inscrivent en dehors des limites établies donnent lieu à un examen des sources possibles de variabilité. La variabilité des résultats des essais de toxicité pourrait être attribuée à l'état de santé des organismes étudiés, à des différences génétiques de tolérance aux produits toxiques d'un lot d'organismes à l'autre, à des différences possibles de qualité des sédiments et (ou) au manque d'uniformité des opérations menées par les techniciens durant la manipulation tant des organismes que des sédiments.

La précision interlaboratoire d'un essai de toxicité sur sédiment entier peut être évaluée à l'aide d'une série d'analyses comparatives au moyen d'un sédiment de contrôle normalisé, d'une espèce d'organisme acceptable, d'une méthode d'essai normalisée et d'un produit toxique de référence. Les résultats des essais de chaque laboratoire sont comparés et le consensus entourant les résultats indique généralement que

le rendement du laboratoire est acceptable. L'acceptabilité et la précision des résultats seront influencées par des différences chez les organismes étudiés, l'interprétation des méthodes d'essai, la nature de l'eau de dilution et l'uniformité d'exécution des essais.

## **1.3 Raison d'être**

À l'heure actuelle, il n'existe aucune méthode normalisée de préparation d'un sédiment de contrôle dopé, ni de produit toxique de référence recommandé pour l'exécution des essais de produit toxique de référence sur sédiment entier. Le présent rapport a pour but de recommander des produits toxiques de référence appropriés et de fournir une orientation quant à la préparation d'un sédiment de contrôle dopé en vue de l'exécution des essais de toxicité de référence. Peu de données ont été publiées sur le recours à un essai sur sédiment entier mené dans un laboratoire donné. Toutefois, des explications ou des informations supplémentaires ont été fournies par un certain nombre de scientifiques ayant acquis de l'expérience dans l'exécution d'essais biologiques sur sédiments dopés (annexe A).

Des essais sur sédiment de contrôle dopé avec du cuivre (Cu) ont été utilisés pour surveiller la précision des essais biologiques sur sédiments entier au cours d'essais d'inhibition de la croissance de *Chironomus tentans* après 10 jours (Geisy, 1992). Toutefois, ce sont les essais biologiques uniquement hydriques de produits toxiques de références qui ont été le plus utilisés pour surveiller la variabilité des effets sur des organismes soumis à des essais de toxicité sur sédiment entier (Paine et MacPherson, 1991; MacPherson, 1992). Des essais de toxicité de référence en phase liquide pourraient être utiles pour l'étude d'organismes épibenthiques comme *Daphnia magna* ou *Hyalella azteca*, mais dans le cas d'organismes comme *Chironomus* spp. ou d'amphipodes marins, l'absence d'un substrat approprié pourrait engendrer un stress qui, à son

tour, influera sur la réaction des organismes aux produits toxiques en suspension dans l'eau (Pesch et Morgan, 1978; Burgess et coll., 1994). Des substrats artificiels comme des billes de verre ou des tubes de verre inertes ont été utilisés pour des organismes endofauniques dans des essais de toxicité hydriques menés avec des produits toxiques de référence (Day, 1993; Fremling et Mauck, 1980; Henry et coll., 1986). Dans des essais comparatifs en phase liquide et sur substrat menés avec *Eohaustorius washingtonianus* et du chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ) comme produit toxique de référence, la présence d'un substrat dopé avec du Cd (sable fin remis en suspension dans une gamme de concentrations de  $\text{CdCl}_2$ ) a réduit la variabilité

des données sur la mortalité et a eu pour résultat des CL50 uniformément plus élevées, comparativement aux essais de toxicité simultanés uniquement hydriques (Yee et coll., 1992).

Un ESDPTR pourrait également être utile dans la mise au point de nouvelles méthodes et dans la définition des conditions optimales des essais de toxicité pour une espèce particulière d'organisme. L'orientation fournie ici sera ajustée en fonction des progrès de la science des sédiments dopés. Le présent rapport s'adresse aux laboratoires qui mènent des essais biologiques sur sédiment dopé.

## Sélection des produits toxiques de référence

### 2.1 *Produit(s) toxique(s) de référence recommandé(s)*

L'utilisation des critères de sélection présentés au tableau 1 a permis de recommander le Cu comme produit toxique de référence inorganique pour les essais de référence sur sédiment entier. Les données publiées se rapportent au Cu sous forme de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ) et de chlorure de cuivre ( $\text{CuCl}_2$ ). Ce dernier composé pourrait convenir davantage aux milieux marins puisque l'anion chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) réagit beaucoup moins aux métaux présents dans les sédiments que l'ion sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Doe et Murdoch, 1994). Dans certaines conditions, l'addition de sulfate pourrait entraîner la formation de complexes de sulfures volatils acides (SVA) et une réduction subséquente de la biodisponibilité. Le Cu est utilisé comme produit toxique de référence dans les essais de toxicité sur sédiment dopé pour l'essai d'inhibition de la croissance de *C. tentans* après 10 jours (Geisy, 1992) et pour les essais de 96 h sur *Mulinia lateralis* lorsque les résultats se rapportent à la mortalité et à la croissance (Burgess et coll., 1994). Il existe des données appuyant le recours au cadmium (Cd) sous forme de chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ) comme produit toxique de référence. Toutefois, à cause du risque de cancer chez les personnes qui participent directement aux activités de dopage des sédiments, le Cd est notre deuxième choix comme produit toxique de référence. Ces produits toxiques de référence inorganiques sont ajoutés au sédiment à l'aide d'eau comme entraîneur, ce qui élimine les inquiétudes au sujet de l'effet des solvants sur le partage des produits chimiques organiques dans le sédiment dopé (Nkedi-Kizza et coll., 1985).

Il n'existe que peu de données sur l'utilisation de contaminants organiques dans les essais de toxicité sur sédiment dopé. On a ajouté du fluoranthène aux sédiments avec une certaine

vérification de l'homogénéité du mélange (Ditsworth et coll., 1990), et l'on a ainsi réussi à provoquer, au cours d'essais de toxicité, des effets chez les organismes étudiés (Swartz et coll., 1990; DeWitt et coll., 1989, 1992; Suedel et coll., 1993). Lorsqu'un produit toxique de référence organique, ou lorsqu'un produit toxique de référence inorganique ne convient pas, le fluoranthène est recommandé.

### 2.2 *Sélection initiale des produits toxiques de référence*

Dans la sélection initiale des produits toxiques de référence pouvant être utilisés pour les ESDPTR, tous les produits toxiques proposés par Environnement Canada (1990) ont été pris en compte. Cette liste comprend quatre produits organiques (4-chlorophénol, dodécylsulfate de sodium, pentachlorophénate de sodium et phénol) et neuf produits inorganiques [ $\text{CdCl}_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ , dichromate de potassium ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), chromate de potassium ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ), chlorure de potassium (KCl), chlorure de sodium (NaCl), nitrate d'argent ( $\text{AgNO}_3$ ), chlorure de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ) et sulfate de zinc ( $\text{ZnSO}_4$ )]. Toutefois, les données publiées sur l'utilisation de la plupart de ces produits chimiques comme produits toxiques de référence ne se rapportaient le plus souvent qu'à des essais de toxicité hydriques (Paine et MacPherson, 1991). Les données sur les essais de toxicité sur sédiment dopé se limitaient au Cd (Swartz et coll., 1985; Nebeker et coll., 1986; Birge et coll., 1987; Robinson et coll., 1988; Di Toro et coll., 1990; Green et coll., 1993), au Cu (Cairns et coll., 1994), au pentachlorophénol (PCP) (Lydy et coll., 1990) et au fluoranthène (DeWitt et coll., 1989, 1992; Swartz et coll., 1990; Suedel et coll., 1993). Par conséquent, seuls les quatre derniers produits toxiques ont été retenus pour les essais de référence sur sédiment de contrôle dopé. Cette décision reflète simplement le fait qu'il existe



**Tableau 1 Principaux critères de sélection d'un produit toxique de référence pour les essais de référence intralaboratoires sur sédiment dopé**

Critère	Pondération de 1 à 10 <sup>1</sup>	Rang et notation de chaque produit toxique de référence			
		Cd	Cu	Fluoranthène	PCP
Manipulation facile avec le sédiment et mélange homogène	10	<b>10</b> (2,7,9, 18,19)	<b>10</b> (4,10, 16)	<b>9</b> (2,12,14,17)	<b>5</b> (13)
Temps d'équilibre raisonnable avec les sédiments (heures ou jours)	10	<b>10</b> (3,7,9, 11,18,19)	<b>10</b> (4,5, 10)	<b>5</b> (1,12,14,17)	<b>3</b> (13)
Bonne courbe dose-effet pour les résultats souhaités chez un organisme donné	9	<b>10</b> (3,6,7, 11)	<b>10</b> (4,5, 10,16)	<b>9</b> (1,13,17)	<b>9</b> (13)
Facilité des mesures/analyses exactes et précises dans l'eau, les sédiments ou les organismes étudiés, aux concentrations provoquant des effets biologiques	8	<b>10</b> (7,8,9, 11,12, 18, 19)	<b>10</b> (10, 16)	<b>8</b> (1,12,14,17)	<b>8</b> (13)
Non-toxicité pour les personnes qui mélangent ou dopent les sédiments ou existence de techniques de sécurité normalisées servant à minimiser l'exposition	7	<b>7</b> (15)	<b>10</b> (15, 16)	<b>8</b>	<b>5</b>
<b>TOTAL<sup>2</sup></b>		<b>419</b>	<b>440</b>	<b>341</b>	<b>260</b>

(1) DeWitt et coll., 1989, 1992

(2) Ditsworth et coll., 1990

(3) Nebeker et coll., 1986

(4) Cairns et coll., 1984

(5) Geisy, 1992

(6) Birge et coll., 1987

(7) Schuytema et coll., 1984

(8) EVS Consultants, 1991

(9) Ray et coll., 1980

(10) Malueg et coll., 1986

(11) Swartz et coll., 1985

(12) DeWitt et coll., 1992

(13) Lydy et coll., 1990

(14) Swartz et coll., 1990

(15) Environnement Canada, 1990

(16) Burgess et coll., 1994

(17) Suedel et coll., 1993

(18) Di Toro et coll., 1990

(19) Green et coll., 1993

<sup>1</sup> 10 = degré d'importance le plus élevé.

<sup>2</sup> Le total est la somme des produits de la pondération multipliée par le rang.

des données sur ces produits et n'empêche aucunement le recours à d'autres produits de référence à mesure que des données supplémentaires deviennent disponibles.

Chaque produit chimique a été évalué en fonction des critères énoncés au tableau 1. D'autres critères limitants ont été pris en compte, sans toutefois être inclus dans l'évaluation lorsqu'il y avait manifestement un manque de données à l'appui. Même si la raison d'être de la plupart des critères de sélection devrait être évidente, certains de ces critères exigent une analyse (voir la sous-section 2.3).

Le fait qu'un produit toxique de référence doive provoquer un effet différent selon que les organismes soumis à l'essai sont en santé ou non (p. ex., des CL50 différentes) est un point important qui n'a pas été retenu comme critère de sélection. En supposant que les conditions expérimentales sont uniformes pour tous les essais de toxicité, il serait possible, sur la base de ce critère, de mettre en évidence des effets qui diffèrent des valeurs moyennes établies. De tels écarts indiqueraient qu'il existe des problèmes possibles quant au lot d'organismes utilisé dans l'essai de produit toxique de référence. La détection d'écarts par rapport aux valeurs moyennes établies a été considérée comme la fonction principale d'un essai de produit toxique de référence. Peu de recherches ont été menées afin de vérifier cette hypothèse dans des essais de toxicité hydriques ou en phase liquide (Environnement Canada, 1990), et il n'existait aucune information sur cette hypothèse pour les essais sur sédiment de contrôle dopé. Par conséquent, ce critère n'a pas pu être utilisé dans le processus de sélection des produits toxiques de référence.

## **2.3 Analyse des critères de sélection**

### **2.3.1 Homogénéité du mélange sédiment-produit chimique**

L'un des critères les plus importants régissant l'utilisation d'un produit chimique dans la

préparation d'un sédiment dopé, c'est que les propriétés chimiques de ce produit doivent permettre un mélange homogène avec le substrat. Même si des métaux servent souvent au dopage des sédiments (Ray et coll., 1980; Schuytema et coll., 1984), peu d'études ont évalué l'homogénéité du mélange dans un même échantillon. Dans une étude, un dispositif de rotation d'un bocal a été construit pour la préparation de sédiments d'essai dopés avec du Cd ou du fluoranthène (Ditsworth et coll., 1990). Dans des échantillons de sédiment dopé avec du Cd prélevés le long de l'axe longitudinal d'un bocal de mélange en position horizontale, les coefficients de variation des teneurs en Cd allaient de 2,2 % à 10,9 % (moyenne de 4,8 %). Le coefficient de variation n'augmentait pas en fonction des concentrations nominales de Cd (sous forme de CdCl<sub>2</sub>; entre 3,5 et 14 mg de Cd/kg) ajoutées au sédiment. Dans certains cas, les concentrations de Cd présentaient des différences significatives ( $p < 0,05$ ) d'un point d'échantillonnage à l'autre à l'intérieur des bocaux. Il convient de souligner que le Cd a été dosé dans la matrice des sédiments par extraction à l'acide (rapport de 1/3 HCl) et que ce dosage ne reflète aucunement la fraction de Cd biodisponible. Les auteurs de l'étude sont d'avis que le Cd peut être mélangé «raisonnablement bien» à l'aide de ces techniques, mais leurs critères de mélange n'ont pas été établis. Il convient également de souligner que cette méthode de dopage n'a pas été convenablement vérifiée avec du sédiment fin et que l'homogénéité du mélange pourrait être très différentes dans des sédiments ayant une teneur plus élevée en limon et en argile.

Burgess et coll. (1994) ont dosé le Cu à trois profondeurs (en surface, à 4 cm et à 8 cm) dans un sable de plage traité dans un four à moufle et auquel on avait ajouté du CuCl<sub>2</sub>. Les concentrations étaient de 371,3, 364,3 et 376,5 mg de Cu/kg de sable sec, respectivement, ce qui semble indiquer que le mélange substrat-produit chimique était relativement uniforme. Stemmer et coll. (1990) ont également observé

une faible variance entre des sous-échantillons parallèles d'essais de toxicité pour deux méthodes de mélange, ce qui porte à croire que la biodisponibilité du produit chimique n'avait pas été influencée par les méthodes de mélange et que le mélange, était efficace (c.-à-d., homogène).

Ditsworth et coll. (1990) ont signalé que le fait de mélanger du fluoranthène dans un bocal de sédiment entraînait un coefficient de variation de 11,5 % pour l'ensemble des points d'échantillonnage dans le bocal et que l'emplacement de ces points n'avait pas d'effet significatif ( $p > 0,05$ ). Un coefficient de variation moyen de 10 % a été mesuré pour un sédiment dopé avec de la dieldrine par la technique de rotation de Ditsworth et coll. (1990) (Ankley, 1993).

L'homogénéité des mélanges sédiment-produit chimique préparés par la méthode de mise en suspension du sédiment (rapport sédiment/eau de 1/3 à 1/5) a été examinée en fonction de la masse sèche d'un sédiment en vrac; les coefficients de variation des teneurs du sédiment dans diverse expériences étaient les suivants :  $4,8 \pm 2,6$  % et  $4,7 \pm 2,1$  % pour le pyrène et le phénanthrène, respectivement (Landrum et coll., 1991),  $6,9 \pm 4,5$  % et  $9,3 \pm 3,4$  % pour le pyrène et le phénanthrène, respectivement (Landrum et coll., 1982) et  $6,6 \pm 3,8$  %,  $5,8 \pm 3,2$  %,  $7,8 \pm 4,5$  % et  $9,1 \pm 5,0$  % pour le pyrène, le benzo-*a*-pyrène, l'hexachlorobiphényle, respectivement (Landrum, 1994). Ces coefficients de variation relativement uniformes laissent supposer que la méthode de dopage des sédiments par mise en suspension se prête à l'obtention de mélanges sédiment-produit chimique homogènes.

Il est recommandé d'ajouter le produit chimique au sédiment et de mélanger le tout jusqu'à ce que la couleur, la texture et le degré d'humidité du mélange soient uniformes. L'homogénéité de la répartition du produit chimique dans le sédiment de contrôle peut être vérifiée au moyen de la

méthode d'échantillonnage hiérarchique suivante : choisir «*n*» échantillons dans les sédiments de contrôle dopés et répartir chacun de ces échantillons, après un mélange plus poussé, en «*m*» sous-échantillons, puis doser le produit toxique de référence dans chacun des «*nm*» sous-échantillons. Des méthodes univariées devraient être utilisées pour vérifier les hypothèses de normalité des données et d'homogénéité de la variance. S'il est nécessaire de transformer les données, une transformation  $\log(x + 1)$  est recommandée. Des méthodes d'analyse de la variance sont appliquées aux données (transformées), et il y aura des sources de variation **entre** les échantillons et **dans** les échantillons. Si la matière est homogène, le test F ne devrait pas être significatif. Cette démarche devrait être suivie pour valider la méthode de dopage pour chaque combinaison de sédiment de contrôle et de produit toxique de référence. Il n'est pas nécessaire de vérifier systématiquement l'efficacité de la méthode de dopage s'il y a uniformité d'un lot à l'autre.

### 2.3.2 Temps d'équilibre du produit toxique de référence

Une fois le sédiment dopé avec le produit toxique de référence choisi, il est souhaitable de laisser le mélange atteindre son état d'équilibre avant de commencer un essai de toxicité sur sédiment entier (ASTM, 1994c). Dans le présent rapport, le terme «équilibre» est utilisé dans le sens d'un partage d'équilibre et désigne l'hypothèse selon laquelle un état d'équilibre existe entre le produit chimique sorbé sur les éléments particuliers du sédiment et l'eau interstitielle (Di Toro et coll., 1991). Le temps requis pour que l'équilibre soit atteint est un critère important de la préparation d'un sédiment dopé, surtout pour des produits toxiques de référence organiques non ioniques. Les temps d'équilibre des sédiments dopés varient grandement d'une étude à l'autre (Burton, 1991). La durée du contact entre le produit toxique (organique ou inorganique) et les particules du sédiment peut influencer tant sur le partage que sur la biodisponibilité du produit

toxique (ASTM, 1994c; Landrum et coll., 1991, 1992; Landrum, 1994). Cet effet semble se produire à cause de la sorption initialement rapide des produits toxiques sur les sites labiles et, ensuite, sur des sites plus résistants (Karickhoff, 1980; Di Toro et coll., 1982; Karickhoff et Morris, 1985; Landrum et coll., 1992). Des modifications contrôlées par voie cinétique du partage des produits toxiques entre l'eau et les sédiments pourraient entraîner des changements de biodisponibilité (Nkedi-Kizza et coll., 1985; Landrum, 1989; Landrum et coll., 1989), de sorte que le temps de contact avant l'essai risque d'être une source possible de variabilité des résultats expérimentaux durant l'exécution des ESDPTR. Même si Suedel et coll. (1993) ont montré qu'il y a peu de différence entre les valeurs de la CE50 après 10 jours pour *H. azteca* et *C. tentans* exposés à du fluoranthène dans des essais comportant des temps de contact de 5 min et de 24 h, le temps de contact avant l'essai mérite une attention plus poussée. Il est également important de reconnaître que la quantité de produit toxique utilisée pourrait dépasser la capacité de complexation du système de sédiment d'essai, qui est largement influencée par les conditions redox que l'on trouve dans le sédiment, la répartition granulométrique et la teneur en matière organique.

La dynamique du partage et la biodisponibilité des métaux sont influencées par des facteurs chimiques et physiques comme les gradients oxygène/redox, le pH, la température, l'adsorption et la taille des particules (Burton, 1991). Jenne et Zachara (1987) ont montré qu'une proportion élevée des métaux dissous ajoutés à un sédiment est irréversiblement adsorbée sur des solides en quelques heures. À l'aide d'un sédiment anaérobie modèle, Oakley et coll. (1980) ont également observé que la cinétique du partage des métaux était rapide, l'équilibre étant atteint en 2 à 5 jours. Pour cette raison, les études de la fraction biodisponible (toxique) devraient être menées après cette période initiale. Le temps d'équilibre prévu entre

l'addition d'un métal à un sédiment et le début de l'essai biologique n'a pas été normalisé. Schuytema et coll. (1984) ont dopé des boues de sédiment avec du Cd en fonction de constantes d'adsorption conditionnelles (Nelson et coll., 1981) afin d'obtenir les concentrations finales souhaitées de Cd soluble, mais le temps d'équilibre réel entre le dopage et le début des essais biologiques de létalité menés avec *D. magna* n'a pas été indiqué. Les CL50 après 48 h chez *D. magna* dans ces deux études variaient entre 19 et 84 µg de Cd/L (activité ionique libre calculée). Birge et coll. (1987) ont effectué des mélanges eau-sédiment dopé avec du Cd pendant 5 à 7 jours, puis ont laissé décanter le tout durant une nuit avant l'introduction des organismes. La CL50 après 10 jours chez *Rhepoxynius abronius* exposé à des sédiments de contrôle dopés avec du Cd était de 6,9 mg/kg. Aucune justification du choix des temps d'équilibre n'a été présentée et il n'y a pas eu de vérification de l'équilibre dans ces études. Sawyer et Burton (1994) ont également dopé un sédiment formulé avec du Cd et ont constaté que la sorption était stable en moins d'une heure de mélange et que les valeurs de la CL50 après 96 h chez *H. azteca* étaient uniformes pour des temps de stockage variables.

Après avoir dopé des mélanges sédiment-eau avec du Cu, Cairns et coll. (1984) ont surveillé l'atteinte de l'équilibre en dosant le Cu en suspension dans l'eau jusqu'à ce qu'une valeur constante soit obtenue. L'équilibre du mélange a été atteint en 7 à 42 jours, selon la composition physicochimique du sédiment. Dans les essais de toxicité sur sédiment, il est plus courant de surveiller l'atteinte de l'équilibre en dosant le Cu dans l'eau interstitielle jusqu'à ce qu'une valeur constante soit obtenue (Ankley et Swartz, 1994).

Même si le temps d'équilibre pour les métaux semble varier entre quelques heures et quelques jours, l'atteinte de l'équilibre des produits organiques hydrophobes entre l'eau et le sédiment pourrait prendre des jours ou même des années (Karickhoff et Morris, 1985; Podoll et

Mabey, 1987). Lydy et coll. (1990) ont mené des essais de létalité de 24 h avec *C. riparius*, 48 h après avoir dopé des sédiments d'essai avec du PCP. DeWitt et coll. (1989) ont laissé le sédiment et l'eau s'équilibrer pendant 24 h après l'addition de fluoranthène et avant l'introduction des organismes soumis à l'essai. Plus récemment, DeWitt et coll. (1992) ont laissé des sédiments dopés avec du fluoranthène s'équilibrer pendant 5 semaines, à 4° C, avant de mener des essais de toxicité. Malgré d'énormes différences entre les sédiments en ce qui concerne la teneur en carbone organique particulaire, la taille des particules du substrat et le temps d'équilibre avant l'exécution des essais, l'écart maximal entre les valeurs de la CL50 après 10 jours n'étaient que du triple, variant entre 5,1 et 15 mg de fluoranthène/kg (total mesuré; en fonction du sédiment sec). Des observations semblables ont été signalées par Suedel et coll. (1993). Ces résultats portent à croire que l'atteinte de l'équilibre du fluoranthène peut être assez rapide. L'atteinte de l'équilibre n'a été vérifiée dans aucune de ces études. Il est possible d'évaluer le temps d'équilibre en dosant le produit toxique de référence dans des échantillons prélevés en même temps dans l'eau sus-jacente, l'eau interstitielle et le sédiment. Lorsque les concentrations demeurent constantes après le dopage du sédiment, on obtient une approximation du temps d'équilibre. L'exactitude de cette estimation n'est pas connue à cause de restrictions liées au mode opératoire (c.-à-d., la possibilité d'isoler ces différents éléments et de procéder à des dosages exacts et précis). À l'heure actuelle, les données existantes ne permettent pas de recommander un temps unique d'équilibre avant l'essai pour ce qui est des produits toxiques de référence. Le temps minimal pour l'eau interstitielle/sédiment devrait être déterminé pour chaque combinaison de sédiment de contrôle et de produit toxique de référence et à chaque concentration d'exposition. En attendant que de telles données soient disponibles, nous recommandons un temps d'équilibre de 4 semaines pour les sédiments

dopés, période qui correspond aux recommandations formulées par d'autres organismes (ASTM, 1995; USEPA, 1994a).

### 2.3.3 *Stockage des sédiments de contrôle dopés*

Les conditions de stockage (p. ex., la température) et la durée du stockage peuvent également influencer sur la toxicité des échantillons de sédiment dopé. Malueg et coll. (1986) ont examiné les effets du stockage, à 5° C et à -20° C, de sédiments dopés avec du Cu sur la toxicité chez *D. magna*. La fraction de Cu soluble a été mesurée à différents moments pendant les 25 semaines durant lesquelles ces sédiments ont été stockés; dans les sédiments non amendés avec de la tourbe, aucune tendance uniforme du Cu soluble n'était manifeste. Les teneurs ont diminué après 1 semaine, se sont rétablies de nouveau après 3 semaines, ont augmenté du double après 8 semaines et se sont rétablies de nouveau après 12 à 25 semaines. L'ajout de tourbe a réduit le dégagement de Cu soluble et total dans la colonne d'eau, de sorte que les teneurs en Cu étaient plus faibles dans l'eau des essais exécutés au moyen de sédiments amendés avec de la tourbe; toutefois, dans le temps, aucune tendance uniforme du Cu soluble n'était manifeste. Stemmer et coll. (1990) ont examiné l'effet du temps (postdopage) et de la méthode de dopage sur la toxicité d'un sédiment dopé avec du sélénium (Se) chez *D. magna*. La toxicité a diminué après 48 h de stockage, est demeurée constante jusqu'à 2 semaines après le dopage et a augmenté de nouveau après 3 semaines dans les sédiments stockés à 4° C. Pour ce qui est des sédiments dopés stockés à 20° C, la toxicité a diminué de façon appréciable après 48 h et est demeurée constante durant toute l'étude de 3 semaines. Les deux méthodes de dopage utilisées (agitation et vibration) ont généralement entraîné des CL50 de valeurs semblables (Stemmer et coll., 1990).

Les sédiments de contrôle prélevés sur le terrain et dont les débris et les organismes endogènes indésirables ont été éliminés devraient être

stockés à  $4 \pm 2^\circ \text{C}$  jusqu'à ce qu'ils soient utilisés dans un essai effectué à l'aide d'un produit toxique de référence. Un échantillon de sédiment suffisant pour l'exécution d'un ESDPTR est récupéré de la chambre froide et porté à la température expérimentale. Tous les sédiments de contrôle utilisés dans des essais de toxicité devraient être fraîchement dopés à la température de l'essai, soumis à un temps d'équilibre de 4 semaines à cette température et utilisés dans un essai le plus tôt possible après ce délai. Les lots de sédiment destinés à une série d'essais de toxicité d'une certaine durée ne devraient pas être stockés pendant plus de 6 semaines après leur dopage.

### **2.3.4 Efficacité des produits toxiques de référence**

Les produits toxiques de référence potentiels pour les essais sur sédiment de contrôle dopé devraient être caractérisés par une courbe de létalité dose-effet prononcée pour le résultat souhaité chez un organisme d'essai particulier. Il existe des données sur la létalité d'organismes exposés à des sédiments dopés avec du Cd (Birge et coll., 1987; Green et coll., 1993; Nebeker et coll., 1986; Robinson et coll., 1988; Swartz et coll., 1985), du Cu (Cairns et coll., 1984; Malueg et coll., 1986) et du fluoranthène (DeWitt et coll., 1989, 1992; Swartz et coll., 1990; Suedel et coll., 1993). Il en existe également pour deux autres produits chimiques qui sont parfois utilisés comme produits toxiques de référence dans les essais sur sédiment entier, soit le PCP et le Se (Lydy et coll., 1990). Il importe de connaître les mécanismes d'évitement utilisés par les organismes soumis à l'essai, car il peut en résulter une relation dose-effet non linéaire. On a observé que des organismes émergeaient du sédiment à des doses élevées, de sorte que ces organismes n'étaient pas exposés à une

concentration relativement plus élevée (Kukkonen et Landrum, 1994; Landrum et coll., 1994). Les organismes peuvent également manifester une baisse de prise d'aliments, ce qui peut influencer sur l'exposition.

Bien que le résultat le plus courant des essais de toxicité aiguë soit la létalité, les réactions sublétales durant des expositions aiguës et chroniques peuvent être utilisées pour évaluer la toxicité dans des essais effectués avec certaines espèces (p. ex., émergence et réenfouissement des amphipodes marins, Swartz et coll., 1985; inhibition de la croissance du polychète marin *Nereis arenaceodentata*, Dillon et coll., 1993). L'inhibition de la croissance a été utilisée couramment comme résultat pour des essais sur sédiment dopé avec un produit toxique (Ankley, 1994). Le résultat d'un ESDPTR devrait être précisé dans le protocole d'essai pour l'espèce visée.

### **2.3.5 Analyse et risque potentiel**

Il existe des méthodes normalisées de dosage du Cu, du Cd et du fluoranthène dans des matrices tant liquides que solides (APHA et col., 1989; Ozretich et Schroeder, 1986). Le risque que représentent les produits toxiques de référence pour les techniciens chargés du dopage des échantillons de sédiment devrait également être pris en compte. Parmi les trois produits toxiques de référence recommandés, le Cu est le moins toxique pour les êtres humains aux concentrations qui seraient utilisées pour le dopage des sédiments. Un exemple du type de renseignements que l'on trouve sur les fiches signalétiques est présenté à l'annexe C. Il convient toutefois de souligner que ces renseignements ne sont valables que pendant quatre ans et qu'ils doivent être facilement accessibles à tous les utilisateurs de produits chimiques.

## Sélection des sédiments de contrôle à doper avec un produit toxique de référence

### 3.1 Sédiment(s) de contrôle recommandé(s)

Des sédiments de deux sources différentes peuvent être utilisés dans les ESDPTR :

1) des sédiments naturels prélevés dans un milieu dulcicole, estuarien ou marin; 2) des sédiments préparés (p. ex., un substrat artificiel ou un sédiment formulé). Compte tenu du manque de données publiées sur l'emploi de ces différents types de sédiment dans les essais de référence sur sédiment dopé, rien ne permet de déterminer, à l'heure actuelle, le type de sédiment à privilégier. Par conséquent, pourvu que le sédiment choisi puisse être dopé facilement avec le produit toxique de référence choisi, qu'il ait des propriétés physico-chimiques uniformes et bien caractérisées et qu'il provoque un effet acceptable chez les organismes soumis à l'essai (p. ex., survie de 90 % ou plus des spécimens dans le cas des amphipodes marins) dans les contrôles expérimentaux, l'un ou l'autre des trois types de sédiment peut être utilisé.

Le type de sédiment de contrôle peut varier selon l'objectif de l'essai. Si l'on veut surveiller, dans le temps, la précision des essais de toxicité sur sédiment entier dopé menés par un laboratoire et accroître la possibilité de détecter des changements de l'effet chez les organismes étudiés, il est nécessaire de minimiser la variation des caractéristiques physico-chimiques du sédiment de contrôle à doper. Cette tâche est généralement plus facile à accomplir si l'on a recours à un sédiment formulé fraîchement dopé avec un produit toxique de référence. Un sédiment artificiel ou formulé serait idéal pour surveiller l'état de santé de différentes populations d'organismes et les préparations. Ce type de sédiment assure dans le substrat l'uniformité souhaitée, qui est essentielle à la

mesure de l'acceptabilité du rendement des techniciens et des installations ainsi que des méthodes et modes opératoires; il permet en outre d'éliminer les problèmes d'interprétation des résultats d'essai souvent attribuables à l'interférence d'organismes endogènes. De tels sédiments peuvent être normalisés en fonction de leur composition, des méthodes de dopage et de leur stockage, ce qui permet de réduire la variabilité entre les essais. Le recours à un sédiment artificiel ou formulé offre aussi l'avantage de réduire, d'une part, la variabilité entre les lots de sédiment, ce qui le rend idéal pour l'évaluation du rendement interlaboratoire, et, d'autre part, le coût associé au prélèvement sur le terrain d'une quantité suffisante de sédiment pour les essais courants. Les avantages et les inconvénients du recours à des sédiments formulés sont abordés ailleurs (Stephenson et coll., 1996; Suedel et Rodgers, 1994; Walsh et coll., 1991).

Des sédiments de contrôle prélevés sur le terrain sont utilisés depuis longtemps à des fins de surveillance et d'évaluation et pour la recherche. Ces sédiments pourraient se prêter davantage au dopage que les autres types de sédiment, car ils sont plus susceptibles de refléter les conditions réelles du milieu.

Nombres d'organismes utilisés couramment dans les essais de toxicité sur sédiment manifestent une grande tolérance à la taille des particules des sédiments et ne nécessitent pas un sédiment particulier pour leur survie. Ces organismes (p. ex., *C. riparius*, *H. azteca*) peuvent souvent être élevés en laboratoire sur des substrats artificiels (p. ex., du papier déchiqueté) (Pascoe et coll., 1990). Les organismes qui sont difficiles à cultiver et qui doivent être prélevés sur le terrain avant l'essai (p. ex., les amphipodes marins)

manifestent souvent des exigences particulières en matière des caractéristiques du sédiment (p. ex., la taille des particules) pour leur survie. Pour de tels organismes, des sédiments de contrôle prélevés sur le terrain ou encore des sédiments formulés de façon à satisfaire les exigences particulières sont recommandés pour les essais de référence sur sédiment entier.

L'information sur les exigences de composition du substrat fait défaut pour la plupart des espèces marines soumises à des essais; toutefois, il existe une quantité appréciable de données pour les espèces dulcicoles (ASTM, 1995; USEPA, 1994a). La composition détaillée du substrat nécessaire pour l'espèce utilisée devrait être énoncée dans les documents relatifs à la méthode d'essai pour cette espèce. Ainsi, Environnement Canada (1992) fournit l'information existante (ou en indique l'absence) sur l'influence de la taille des particules du sédiment sur la survie en laboratoire de sept espèces d'amphipodes marins. À l'avenir, les protocoles et méthodes d'essai biologique devraient inclure au moins les seuils de tolérance et les valeurs optimales de la taille des particules et de la teneur en matière organique.

Peu importe le type de sédiment de contrôle, celui-ci doit être caractérisé avant son utilisation dans un essai de toxicité sur sédiment dopé. Comme condition minimale, tous les types de sédiment de contrôle devraient être caractérisés en fonction de la teneur en carbone organique total (COT), des SVA, de la répartition granulométrique, du pH, de la teneur en eau (pourcentage) et des concentrations du produit toxique de référence (Environnement Canada, 1992). Parmi les quatre analyses des sédiments prélevés sur le terrain qui pourraient fournir des renseignements supplémentaires utiles en vue de l'interprétation des résultats d'essai, on compte la demande biologique et chimique en oxygène, l'ammoniac total, les métaux, les hydrocarbures non gazeux, les composés organiques synthétiques et le potentiel redox. Les critères de

sélection d'un sédiment de contrôle sont présentés au tableau 2.

Il existe peu d'information sur la stabilité, dans le temps, des sédiments de contrôle prélevés sur le terrain et utilisés dans les essais de toxicité. Seul un petit nombre de laboratoires ont couramment recours à des ESDPTR. L'un des critères les plus importants pour la sélection d'un sédiment de contrôle convenant à de tels essais est la survie adéquate des organismes étudiés. La composition granulométrique et autres caractéristiques physico-chimiques des sédiments destinés à ces essais devraient permettre une survie ou une performance acceptable des organismes de contrôle (Paine et MacPherson, 1991). Seuls quelques laboratoires ont recours à des sédiments artificiels ou formulés dans les essais de produit toxique de référence et il n'existe que peu d'information sur la préparation de ces sédiments ou sur la survie des organismes de contrôle dans ces substrats. Toutefois, dans la mesure où, de par sa composition, le sédiment (artificiel ou formulé) permet aux organismes de contrôle de survivre et d'évoluer et qu'il constitue de façon constante un milieu dont les caractéristiques physiques et chimiques sont stables, alors il offre les meilleures possibilités d'utilisation dans un ESDPTR (voir la sous-section 3.3). Les recherches récentes sur la préparation de sédiments artificiels et formulés sont résumées à l'annexe D.

### ***3.2 Prélèvement sur le terrain des sédiments de contrôle***

Les sédiments de contrôle peuvent être prélevés dans n'importe quelle région de dépôt non contaminée et être constitués de matières fines ou grossières (sable), pourvu qu'ils permettent aux organismes étudiés de survivre et d'évoluer dans les contrôles expérimentaux tout au long de l'essai de toxicité. Un sédiment de contrôle est parfois un échantillon de sédiment tamisé qui est prélevé en même temps que les organismes



**Tableau 2 Critères de sélection d'un sédiment de contrôle**

- 
1. Être reproductible d'un essai à l'autre dans un même laboratoire (chaque nouveau lot doit être caractérisé avant utilisation).
  2. Assurer la survie des organismes de contrôle de façon uniforme et acceptable, selon la définition donnée dans la méthodes d'essai normalisée, tout au long de l'essai.
  3. Être formulé uniformément en fonction des spécifications (p. ex., dopage homogène, teneur en eau, taille des particules, teneur en matière organique).
  4. Avoir une source uniforme et efficace de carbone organique.
  5. Subir des changements minimales de caractéristiques physico-chimiques pendant le stockage.
  6. Ne pas poser de risque pour la santé des personnes qui le manipulent.
- 

étudiés. Les modalités de prélèvement des sédiments de contrôle dans des milieux dulcicoles, estuariens et marins sont décrites en détail dans un document connexe (Environnement Canada, 1994).

Avant qu'un sédiment ne puisse servir de sédiment de contrôle, on devrait en analyser les propriétés physico-chimiques afin d'évaluer sa teneur en COT, en SVA et en traces naturelles présentant un intérêt et afin de s'assurer que les exigences de l'espèce étudiée au plan de la taille des particules sont respectées. Il faudrait consulter les méthodes normalisées d'exécution des essais avec les organismes prévus pour déterminer les effets éventuels de la taille des particules sur la survie de ces organismes. Le sédiment est habituellement prélevé au même endroit que les organismes soumis aux essais.

On devrait prélever une quantité suffisante de sédiment de contrôle afin de s'assurer que l'on aura assez de substrat pour le nombre d'essais de produit toxique de référence à effectuer pour établir les limites de variabilité sur une carte de contrôle (p. ex., de 15 à 20 essais). Lorsqu'on prévoit des essais répétés durant un certain laps

de temps, le sédiment devrait être stocké dans l'obscurité, à  $4 \pm 2^\circ \text{C}$  et en quantité suffisante pour la durée des essais (p. ex., jusqu'à un an). Comme le stockage d'échantillons de sédiment entier durant une période prolongée pourrait modifier les caractéristiques physico-chimiques du sédiment et, donc, influencer sur la dynamique du partage du produit toxique de référence, il est recommandé de surveiller périodiquement ces caractéristiques. Le recours à un sédiment formulé ou artificiel permettrait d'éviter les modifications éventuelles causées par le stockage prolongé d'un sédiment naturel. On éviterait aussi, de cette façon, d'avoir à établir fréquemment de nouvelles cartes de contrôle, puisque celles-ci devraient être établies pour chaque nouveau lot de sédiment de contrôle. La modification des échantillons de sédiment recueillis sur le terrain constitue une autre façon de minimiser ce problème (Burgess et coll., 1994).

Étant donné qu'il faut démontrer, à l'aide d'une caractérisation physico-chimique et biologique, que la qualité du sédiment n'a pas été modifiée de façon appréciable durant le stockage, nous recommandons de mesurer l'ammoniac, le pH, le

COT, les SVA et les concentrations de fond du produit toxique de référence tous les mois ou lorsqu'un nouveau sous-échantillon de sédiment stocké est préparé en vue du dopage.

### 3.3 Préparation d'un sédiment de contrôle artificiel ou formulé

Il n'existe pas assez de données sur la préparation des sédiments artificiels ou formulés destinés à des essais de toxicité sur sédiment entier pour que l'on puisse recommander un type plutôt qu'un autre; en effet, ce type de sédiment n'a pas été utilisé couramment dans les évaluations de la toxicité. Toutefois, le besoin (c.-à-d., l'utilité) de ce type de substrat d'essai se fait sentir de plus en plus et, par conséquent, un certain nombre de recherches ont visé la mise au point d'un substrat qui se prêterait aux essais de toxicité. Ces recherches ont eu pour résultat un certain nombre de «recettes» préliminaires de sédiment formulé (annexe D). Ces formulations sont généralement constituées de sable, de limon et (ou) d'argile, avec ou sans source de carbone organique. Elles sont différentes du point de vue de la composition proportionnelle des constituants ou de la méthode de formulation.

Même si un type de sédiment formulé n'est pas recommandé plus qu'un autre, les propriétés suivantes devraient être prises en compte au moment du choix d'une formulation. Idéalement, un sédiment formulé devrait :

- favoriser la survie, la croissance ou la reproduction d'une variété d'invertébrés benthiques;
- permettre d'obtenir des résultats biologiques acceptables et uniformes pour une variété d'espèces;
- présenter une certaine uniformité tant de ses constituants particuliers que de sa performance durant un essai;

- comporter des constituants courants facilement accessibles à toutes les personnes et installations;
- être exempt de concentrations de contaminants pouvant causer des effets nocifs chez les organismes soumis à l'essai (en d'autres termes, des traces seulement sont permises) (ASTM, 1995).

La méthode générale recommandée pour la formulation d'un sédiment comprend : 1) le choix de la formulation qui se prêtera le mieux à l'espèce étudiée, compte tenu surtout de la texture [p. ex., pourcentage de sable, de limon et (ou) d'argile]; 2) le choix d'une source de carbone organique; 3) la combinaison des constituants de façon à obtenir un substrat homogène dans lequel les organismes étudiés pourront survivre, croître et se reproduire. Les caractéristiques physico-chimiques du sédiment formulé devraient s'inscrire dans les limites de tolérance des organismes soumis à l'essai (USEPA, 1994a). Les sources uniformes des constituants de la formulation doivent être fiables et facilement accessibles à tous les intéressés (annexe D).

Les méthodes générales recommandées pour la préparation d'un sédiment dulçaquicole formulé consistent notamment à laver le sable avec de l'eau distillée, à le sécher à 105°C et à le tamiser de façon à retenir les tailles souhaitées de particules et à obtenir un rapport de 2/1 de sable siliceux fin (125 à 250 µm)/sable moyen (250 à 500 µm). On peut obtenir sur le marché du limon broyé (1 à 2 µm) et (ou) de l'argile (argile Allen R<sup>MC</sup> ou kaolin; taille médiane des particules : 1,3 µm). L'argile devrait être réduite en cendre à 450° C pendant 1 h afin d'éliminer le carbone organique souvent associé aux fractions de particules argileuses (Suedel et Rodgers, 1994). La source de carbone organique utilisée dans la formulation des sédiments dulcicoles varie; toutefois, la plupart des laboratoires d'essai utilisent de la tourbe mousseuse, de la

Cerophyl<sup>MC</sup> conditionnée (Hamr et coll., 1994) ou des feuilles d'érable conditionnées (Kemble et coll., 1994). Des essais préliminaires menés avec de l'alpha-cellulose (Ribeiro et coll., 1994) comme source de carbone organique dans un sédiment formulé indiquent qu'il s'agit là d'une source adéquate, fiable et uniforme de carbone, qui n'a pas les effets secondaires caractérisant les autres sources de carbone (p. ex., une teneur réduite en oxygène dissous, des teneurs accrues en ammonium). D'autres types de matière organique pour les sédiments formulés sont présentés à l'annexe D. À l'heure actuelle, la Cerophyl<sup>MC</sup> conditionnée est recommandée comme source de carbone dans un sédiment formulé. Le mélange devrait être tamponné de CaMg(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ou de CaCO<sub>3</sub>. Tous les constituants sont mélangés en fonction de la masse sèche proportionnelle comme suit : sable (75 %), limon/argile (20 %), matière organique (4 %) et tampon (1 %), ou encore selon proportions permettant de tenir compte des exigences d'une espèce particulière d'organisme. Ces recommandations se fondent sur des recherches relativement récentes (annexe D).

Les constituants, à l'exclusion de la matière organique, sont mélangés par voie mécanique à l'état sec, puis ils sont hydratés à l'aide d'une eau de dilution appropriée dans un rapport de 1/1 de 600 g de substrat sec pour 600 mL d'eau. Le mélange est agité dans un récipient de verre (p. ex., une fiole ou un bocal) pendant 24 h, après quoi on laisse le mélange reposer pendant 3 jours à la température ambiante (23° C). L'eau sus-jacente devrait être aérée doucement durant ce temps. Après 3 jours, on ajoute la solution de Cerophyl<sup>MC</sup> «conditionnée» et le tampon. La Cerophyl<sup>MC</sup> devrait être conditionnée pendant 7 jours au moins et 21 jours au plus, période durant

laquelle se produit la décomposition de la matière organique sous l'effet des microorganismes. Cette façon de procéder permet d'éviter les problèmes associés aux concentrations trop élevées d'ammoniac et aux concentrations faibles d'oxygène dissous, qui pourraient survenir durant des essais de toxicité chronique lorsque la Cerophyl<sup>MC</sup> n'est pas conditionnée. Le substrat devrait être mélangé durant 1 h supplémentaire, après quoi on laisse le contenu du récipient se décanter durant la nuit. L'eau sus-jacente excédentaire est décantée et éliminée. Il est préférable de doper le sédiment formulé avec un produit toxique de référence le plus tôt possible. Toutefois, le sédiment peut être stocké à 4° C dans l'obscurité jusqu'à 7 jours avant son dopage.

Nous n'avons trouvé que quelques études publiées sur la préparation des sédiments artificiels destinés à des essais de produit toxique de référence; toutefois, plusieurs chercheurs ont fourni des renseignements supplémentaires sur la préparation des sédiments formulés destinés à des essais de toxicité. La plus grande partie de la recherche porte sur la préparation de sédiments dulcicoles et comprend quelques formulations seulement de sédiments estuarien ou marin. Quelques-unes de ces données sont résumées à l'annexe D. Mais le lecteur aura avantage à consulter les documents originaux.

Un sédiment artificiel devrait satisfaire à des exigences particulières en ce qui concerne la taille des particules, la matière organique, le pH, etc., selon les conditions optimales de survie des organismes soumis à l'essai. Une caractérisation chimique des sédiments de contrôle artificiels devrait avoir lieu chaque mois ou plus souvent, selon les besoins.

## Organismes destinés à des essais sur sédiment dopé avec un produit toxique de référence

Toutes les espèces d'organismes utilisées dans des ESDPTR devraient réagir d'une façon uniforme et reproductible lorsqu'elles sont exposées à un produit toxique de référence dans un sédiment de contrôle. À chaque espèce étudiée devraient correspondre des méthodes d'essai normalisées pour l'exécution des essais de toxicité sur sédiment (p. ex., normes, guides, protocoles, méthodes d'essai biologique).

*C. tentans*, *C. riparius*, et *H. azteca* constituent de bons exemples d'organismes endofauniques (chironomides) et épibenthiques (amphipodes) convenant aux ESDPTR effectués sur des sédiments dulcicoles. Ces organismes, auxquels correspondent des méthodes d'essai bien définies, sont assez faciles à élever et ceux utilisés dans le contrôle manifestent une survie acceptable dans un large éventail de sédiments. Ils se sont également montrés plus sensibles au fluoranthène que les espèces utilisées habituellement dans des essais de toxicité uniquement hydriques (Phipps et coll., 1994; Suedel et Rodgers, 1994). Pour ce qui est des essais sur sédiment marin ou estuarien, l'une ou l'autre des sept espèces d'amphipodes marins recommandées par Environnement Canada (1992) devrait se prêter aux ESDPTR.

Des méthodes normalisées applicables à *H. azteca*, *C. riparius*, *C. tentans*, et *Hexagenia* spp. sont en voie d'élaboration par l'ASTM (annexes de la norme ASTM E 1383, ASTM, 1994b), l'USEPA (1994a) et Environnement Canada (1997a, 1997b). À mesure que les procédures

d'élevage, d'essai et de conservation en laboratoire s'amélioreront, d'autres organismes comme *H. limbata*, *Diporeia* spp., *Lumbriculus* sp., *Tubifex tubifex* et *Neanthes* spp. pourront être utilisés dans les ESDPTR. Il y a lieu de normaliser systématiquement les méthodes d'exécution des nouveaux essais sur sédiment avec d'autres organismes si l'on veut réduire la variabilité des résultats obtenus dans les essais de toxicité au moyen d'un produit chimique (p. ex., un produit toxique de référence) et de sédiments de contrôle, de référence ou d'essai.

Chaque espèce d'organisme utilisée par un laboratoire dans des essais de toxicité doit faire l'objet d'une série distincte d'ESDPTR. Ainsi, lorsqu'un amphipode marin (p. ex., *E. washingtonianus*) est utilisé dans des essais liés à un permis d'immersion en mer, les ESDPTR doivent être menés avec cet amphipode particulier et non une espèce apparentée. De plus, les organismes prélevés sur le terrain en vue des ESDPTR devraient provenir de la même source que les organismes utilisés dans des essais de toxicité sur sédiment entier. Les organismes devraient être acclimatés aux conditions expérimentales avant l'essai, conformément à la méthode d'essai de toxicité prévue pour l'espèce. Les organismes soumis à l'essai devraient être d'un âge ou d'une taille semblable. Si des animaux sont prélevés sur le terrain en vue d'essais menés en laboratoire, ils devraient, idéalement, être disponibles tout l'année et manifester une réaction uniforme aux sédiments de contrôle dopés.

## **Acquisition et manipulation des produits chimiques**

Les produits toxiques de référence pris en compte dans le présent document (section 2) sont peu coûteux et sont faciles à trouver à un degré de pureté élevé. Les techniques de manipulation et de stockage recommandées peuvent varier d'un produit chimique à l'autre. Il est toujours bon de porter des vêtements de protection (p. ex., des gants, des lunettes de sécurité), d'éviter tout contact avec la peau et, pour prévenir l'inhalation de vapeurs nocives, d'utiliser un respirateur ou une hotte. Tous les produits chimiques devraient être stockés dans des récipients bien étiquetés, en un endroit frais,

sec et bien ventilé, à l'écart de toute matière réactive et de toute flamme. Des fiches signalétiques valables devraient être facilement accessibles à tout le personnel qui utilise les produits chimiques. Ces fiches, que l'on peut obtenir du fournisseur, contiennent des renseignements utiles sur la manipulation et le stockage sécuritaires des produits chimiques. Elles fournissent également des renseignements sur les méthodes adéquates d'élimination des produits chimiques. Un exemple du type d'information trouvé sur une fiche signalétique est présenté à l'annexe C.

## Méthodes universelles d'exécution des essais de produit toxique de référence au moyen d'un sédiment de contrôle

Des conseils se rapportant au contrôle de la précision des essais de toxicité pour ce qui est de l'exposition des organismes à des produits toxiques de référence dans l'eau sont fournis par Environnement Canada (1990). Une partie de l'information incluse dans cette même source sur l'utilisation des produits toxiques de référence est adaptée ci-après par souci de continuité. On trouvera à l'annexe E de la source précitée des méthodes de préparation exactes des solutions d'essai en vue du dopage des sédiments de contrôle.

Une fois le sédiment dopé avec du Cu, du Cd ou de fluoranthène, l'essai de toxicité doit être exécuté conformément aux méthodes et modes opératoires précisés pour l'essai de toxicité normalisé et pour l'espèce en question. Par conséquent, les conditions expérimentales, la durée et les résultats mesurables correspondront à ceux qui sont recommandés dans la méthode d'essai pour un organisme particulier.

Les résultats des ESDPTR peuvent servir à préparer des cartes de contrôle (Environnement Canada, 1990). Des cartes de contrôle devraient être élaborées et conservées pour chaque espèce utilisée dans les essais de toxicité sur sédiment menés par un laboratoire particulier (voir la section 7). Les méthodes universelles suivantes peuvent être utilisées dans l'exécution des ESDPTR au moyen de Cu, de Cd ou de fluoranthène.

### 6.1 Propriétés chimiques, étiquetage et stockage

Des renseignements devraient être recueillis sur les propriétés du produit chimique destiné aux essais, y compris la solubilité dans l'eau, la tension de vapeur, la stabilité chimique, les

constantes de dissociation et la biodégradabilité. Lorsque la solubilité d'un produit dans l'essai soulève des doutes ou des incertitudes, on devrait recueillir et consigner les méthodes acceptables utilisées antérieurement pour la préparation de solutions aqueuses de ce produit. Le cas échéant, on devrait également recueillir et consigner les quatre renseignements existants, comme la formule développée, le degré de pureté, la nature et le pourcentage des impuretés significatives, la présence et la quantité d'additifs, le coefficient de partage *n*-octanol/eau ( $K_{oe}$  ou  $P_{oe}$ ) et la constante d'équilibre  $K_p$ .

Les récipients de produit chimique doivent être scellés et codés ou étiquetés (nom chimique, numéro de lot, fournisseur, date de réception) au moment de la réception. Les conditions de stockage (p. ex., la température, la protection contre la lumière) sont souvent dictées par la nature du produit chimique. Les modes opératoires normalisés de manipulation et de stockage des produits chimiques en laboratoire doivent être suivis; des conseils à cet égard sont fournis sur les fiches signalétiques l'on peut obtenir du fournisseur des produits chimiques.

### 6.2 Préparation d'un sédiment dopé

#### 6.2.1 Manipulation prédopage d'un sédiment prélevé sur le terrain

Les méthodes de prélèvement sur le terrain, de transport et de stockage des échantillons de sédiment destinés à des ESDPTR doivent être conformes à celles énoncées dans un document connexe (Environnement Canada, 1994) et, le cas échéant, dans la méthode d'essai biologique particulière à suivre (p. ex., Environnement Canada, 1992, 1997a, 1997b). Le sédiment de contrôle prélevé devrait être placé dans un

récepteur fait d'un matériau non toxique qui peut être scellé et transporté vers le laboratoire.

Dans le laboratoire, le sédiment devrait être déposé sur un plateau et trié à la main à l'aide d'une pincette afin de le débarrasser des grosses particules (p. ex., roches et débris) et des organismes endogènes qui pourraient nuire directement ou indirectement aux organismes soumis à l'essai. Si la vérification microscopique de la présence d'espèces endémiques nuisibles indique qu'il pourrait être impossible d'isoler les organismes, le sédiment devrait être tamisé sous pression à travers des mailles dont la taille est choisie en fonction de l'essai de toxicité et de l'organisme soumis à l'essai, des prédateurs et (ou) des compétiteurs susceptibles d'être présents et de la nature du sédiment (p. ex., répartition granulométrique, quantité et type de débris). Les débris et les organismes devraient être éliminés du sédiment le plus tôt possible avant le stockage de façon à réduire la détérioration de la qualité du sédiment sous l'effet de la décomposition d'organismes endofauniques ou de débris organiques. Le sédiment devrait ensuite être mis dans des récipients scellés et stocké à  $4 \pm 2^\circ \text{C}$  jusqu'à ce qu'il soit dopé avec un produit toxique de référence. Le sédiment de contrôle prélevé sur le terrain devrait être stocké durant une période ne dépassant pas 12 mois.

Si le sédiment de contrôle ne peut être tamisé sous pression, il peut l'être avec de l'eau (c.-à-d., tamisé par voie humide). On devrait utiliser à cette fin une partie de l'eau de dilution, portée auparavant à la température d'essai souhaitée et à la salinité requise (en cas d'essai sur sédiment marin ou estuarien), puis aérée afin d'obtenir une teneur en oxygène dissous égale ou supérieure à 90 % de la valeur de saturation. L'eau recouvrant le sédiment de contrôle tamisé devrait être enlevée soigneusement et éliminée. Il s'agit d'enlever cette eau sans pour autant éliminer les particules fines de sédiment remis en suspension (c.-à-d., la fraction limon/argile de  $<0,063 \text{ mm}$ ). Le sédiment de contrôle tamisé par voie humide

doit être décanté pendant 12 h au moins (p. ex., durant la nuit); pendant cette période, il devrait être conservé suivant les conditions décrites antérieurement. Les récipients devraient être maintenus à un angle favorisant la décantation ou le siphonnage de l'eau recouvrant le sédiment.

Les principales caractéristiques physiques et chimiques du sédiment devraient être mesurées avant le dopage. Un sous-échantillon du sédiment de contrôle devrait être analysé à l'aide de méthodes normalisées en fonction des points suivants au moins : teneur en eau, pH, ammoniac, COT, SVA, répartition granulométrique (pourcentage de gravier, de sable grossier et fin, de limon et d'argile), masse volumique humide et concentrations de fond du produit toxique de référence (p. ex., Cu, Cd ou fluoranthène). Une caractérisation plus poussée peut inclure les analyses suivantes : résidu volatil, salinité de l'eau interstitielle (avant le tamisage en laboratoire), demande biochimique et (ou) chimique en oxygène, potentiel redox (Eh), métaux, SVA, teneur en matière organochlorée totale, composés organochlorés et hydrocarbures aromatiques, polycycliques (ASTM, 1994b, c). Il est particulièrement important de connaître la teneur en COT du sédiment de contrôle si le produit toxique de référence est un composé organique non ionique (p. ex., du fluoranthène), de même que la teneur en SVA du sédiment de contrôle si le produit toxique de référence est un composé inorganique (p. ex., du  $\text{CdCl}_2$ , ou du  $\text{CuCl}_2$ ) (Carlson et coll., 1991; Ankley et coll., 1993).

La teneur en eau du sédiment de contrôle doit être déterminée avant le dopage afin de normaliser ce dernier en fonction de la masse sèche. À cette fin, il faudrait peser (à 1,0 g près) trois échantillons de 2,0 g de sédiment humide et les déposer dans des plateaux en aluminium pesés, préalablement séchés au four à  $105^\circ \text{C}$  pendant 24 h, puis refroidis à la température de la pièce et placés dans un dessiccateur. Les échantillons de sédiment devraient subir un

séchage à 105° C pendant un nuit (Yee et coll., 1992), un refroidissement à la température de la pièce dans un dessiccateur, puis un nouveau pesage, après quoi la teneur en eau est déterminée en pourcentage par la méthode différentielle. La masse volumétrique humide moyenne (p. ex., mg/cm<sup>3</sup>) devrait également être calculée par la détermination de la masse humide de volumes mesurés de trois échantillons de sédiment, avec établissement d'une moyenne des valeurs.

Selon le plan et le but des essais, l'eau d'essai (c.-à-d., celle utilisée pour recouvrir le sédiment durant l'essai) et l'eau de dilution/de contrôle (c.-à-d., celle utilisée pour préparer les dilutions de produits chimiques expérimentaux) peuvent être de l'eau douce ou de l'eau de mer artificielle ou reconstituée, ou encore de l'eau douce ou de l'eau de mer naturelle non contaminée. Si l'on utilise l'eau du robinet, celle-ci devrait être déchlorée et passée à travers un filtre à charbon. L'eau de mer naturelle ou reconstituée peut être réajustée à la salinité souhaitée, comme dans les méthodes d'essai biologique sur sédiment, par l'addition de sels marins secs ou de saumure (si elle n'est pas assez salée) ou encore d'eau distillée (si elle est trop saline) (Environnement Canada, 1992). Peu importe le choix de l'eau d'essai, il faut démontrer que les organismes étudiés peuvent survivre et évoluer (c.-à-d., manifester un comportement normal). Pour ce qui est du devenir et du comportement des produits toxiques de référence inorganiques ajoutés à l'eau de mer, prière de consulter le résumé présenté à l'annexe E, de même que l'analyse de McLusky et coll.(1986).

L'eau de dilution/de contrôle doit être réajustée à la température requise avant d'être utilisée. Elle devrait avoir une teneur en oxygène dissous égale ou supérieure à 90 % de la valeur de saturation en air. Au besoin, le volume d'eau requis devrait être aéré vigoureusement (passage d'air comprimé exempt d'huile à travers des pierres de barbotage) immédiatement avant son utilisation,

avec vérification de sa teneur en oxygène dissous afin de confirmer qu'elle est égale ou supérieure à 90 % de la valeur de saturation.

### 6.2.2 Méthodes de dopage des sédiments

Les principales méthodes de dopage des sédiments avec un contaminant incluent le dopage par voie humide et le dopage par voie sèche. Des sédiments séchés à l'air ont été dopés de façon satisfaisante lors d'études menées en laboratoire sur la relation dose-effet entre des contaminants organiques de sédiment et des résultats d'essai biologique (Clark et coll., 1987; Foster et col., 1987; Keilty et coll., 1988a, b). Toutefois, le séchage à l'air peut entraîner une perte de composés volatils et des changements de caractéristiques des sédiments, surtout en ce qui concerne la taille des particules. On a pu montrer que la présence d'air et le séchage à l'air modifient la complexation et la disponibilité des métaux (Kersten et Förstner, 1987). Le séchage à l'air ajoute également une autre étape à la méthode de dopage, prolongeant le temps d'exécution d'une tâche déjà complexe, en plus de poser un risque de contamination durant la manipulation. Le séchage des sédiments prélevés sur le terrain et destinés à dopés n'est donc pas recommandé.

Les techniques de dopage des sédiments par voie humide sont actuellement les plus acceptables; il existe trois méthodes mécaniques de base. Ces méthodes diffèrent du point de vue de la quantité d'eau présente dans les mélanges durant le dopage et peuvent être décrites comme suit :

- f. dopage par rotation du sédiment humide (Ditsworth et coll., 1990);
- g. dopage d'un sédiment à l'état de boue liquide (Birge et coll., 1987);
- h. dopage d'une suspension de sédiment (Cairns et coll., 1984; Schuytema et coll., 1984; Stemmer et coll., 1990).



Les avantages et les inconvénients de ces méthodes ont été résumés par Stephenson et coll. (1996). En plus de ces techniques, les sédiments peuvent être dopés par agitation avec une cuillère ou une spatule, pourvu que l'homogénéité du mélange soit assurée. Dans tous les cas, des quantités de solution mère mesurées exactement devraient être préparées et mélangées avec le sédiment de contrôle de façon à ce qu'il y ait une répartition homogène dans l'ensemble du sédiment.

**a. Technique de dopage par rotation de sédiment humide**— La technique de dopage par rotation de sédiment humide en vue de l'exécution d'un ESDPTR exige un dispositif spécial de rotation d'un bocal; ce dispositif est décrit par Ditsworth et coll. (1990). Cette méthode a permis de produire régulièrement des volumes relativement importants et homogènes de sédiments dopés avec un métal. Elle est particulièrement efficace pour le dopage de sédiments avec des composés organiques non ioniques. Son principal inconvénient réside dans le fait que le dispositif de rotation doit être construit ou acheté.

Le dispositif de rotation utilisé par Ditsworth et coll. (1990) est constitué de huit rouleaux horizontaux parallèles actionnés par un moteur électrique par le biais d'un engrenage réducteur, de courroies et de poulies qui font tourner des récipients cylindriques contenant les mélanges de substrat. Ce dispositif ou un dispositif semblable devrait être utilisé si la technique de dopage par rotation de sédiment humide est employée. Le mélange se produit par voie gravimétrique sous l'effet d'une rotation des bocaux à une vitesse inférieure à la vitesse critique à laquelle le contenu subirait une centrifugation. Des bocaux d'une capacité d'un gallon subissent une rotation à quelque 15 tr/min, c'est-à-dire à environ 14 % de la vitesse critique. Le substrat est saturé d'eau de dilution avant la rotation. Lorsqu'elles sont mouillées de façon optimale, les particules individuelles du substrat adhèrent les unes aux

autres et à la paroi du bocal en rotation, puis tombent le long de la surface de la masse du substrat.

Chaque bocal devrait d'abord être rempli de la quantité requise de sédiment humide (masse calculée de sédiment sec requise pour l'essai) avant que le produit toxique ne soit ajouté. Plusieurs trous d'un diamètre de 1 cm et de profondeurs différentes devraient être percés dans le sédiment afin d'offrir une plus grande surface pour la répartition initiale du produit toxique. Le sédiment de chaque bocal devrait être dopé avec un volume préétabli de solution mère ou d'un volume égal d'une dilution de cette solution. Une pipette volumétrique devrait être utilisée pour répartir chaque aliquote à la surface supérieure et dans les traces du sédiment de chaque bocal. Le substrat doit être dopé de façon séquentielle, les concentrations du produit toxique étant de plus en plus élevées, de façon à minimiser le risque d'intercontamination. Le substrat de contrôle doit être préparé par l'ajout d'un volume équivalent d'eau de dilution à un bocal rempli de sédiment non dopé. Après le dopage, tous les bocaux et leur contenu devraient être traités de façon identique.

Le bec de chaque bocal devrait être essuyé pour le débarrasser de toute particule; les couvercles devraient être fixés solidement et les bocaux devraient être placés horizontalement sur les rouleaux du dispositif de mélange. La rotation devrait être effectuée à la température indiquée dans la méthode de l'essai de toxicité. Les bocaux doivent être surveillés de près durant la première heure afin de s'assurer que le mélange du substrat est adéquat. Après 15 min environ de rotation, l'efficacité du mélange du substrat peut être évaluée à l'oeil. S'il semble y avoir cohésion d'une partie du substrat — présence d'agglomérations ou de boules —, tous les bocaux doivent être ouverts et une aliquote d'eau de dilution (50 mL) doit être ajoutée à chaque substrat afin d'en augmenter la fluidité. Les couvercles doivent être remis en place et les

bocaux placés de nouveau sur les rouleaux. Cette procédure devrait être répétée aussi souvent que nécessaire, c'est-à-dire jusqu'à ce que le technicien puisse observer une rotation du substrat sans formation de boules. Le fait d'ajouter de l'eau par petites aliquotes permet de minimiser le risque d'une sursaturation du substrat, ce qui empêcherait sa rotation et exigerait une décantation de l'eau excédentaire avant que le substrat ne soit placé dans les enceintes d'essai. Normalement, la rotation des bocaux peut se poursuivre jusqu'à la fin de la journée de travail (minimum 2 h); les bocaux peuvent alors être enlevés des rouleaux, secoués doucement pour permettre à la partie du substrat qui adhère à la paroi de se déposer, placés en position verticale et conservés dans l'obscurité durant la nuit. Des matières potentiellement toxiques ne devraient pas subir une rotation sans surveillance. Une rotation prolongée (p. ex., plus d'une semaine) devrait être évitée si l'on veut minimiser les changements qui pourraient se produire dans la répartition granulométrique. Une oxydation des sédiments pourrait également se produire durant la rotation. Le lendemain matin, on peut faire subir aux bocaux une rotation de 2 h afin de réintégrer dans le substrat toute eau interstitielle qui a pu exsuder durant la nuit. Immédiatement après le mélange, des quantités de substrat correspondant à celles de la méthode d'essai prévue devraient être ajoutées soigneusement pour minimiser toute perturbation du sédiment et les récipients d'essai devraient rester intacts durant la période de mise en équilibre de 4 semaines.

Même s'il a été confirmé que la technique de dopage par rotation de sédiment humide peut produire un mélange homogène sédiment-produit toxique de référence, les données se limitent à des sédiments à faible teneur en limon et en argile. L'efficacité de la méthode n'a pas encore été établie pour des sédiments à teneur moyenne à élevée en limon ou en argile.

**b. Technique de dopage d'un sédiment à l'état de boue liquide** — La technique de dopage d'un

sédiment à l'état de boue liquide (Birge et coll., 1987; Francis et coll., 1984; Landrum et coll., 1992. 1992) requiert un équipement minimal. Elle diffère de la technique de dopage d'une suspension de sédiment pour ce qui est du rapport eau/sédiment ou de la façon d'ajouter le produit toxique. Un échantillon de sédiment de contrôle correspondant à 250 g de sédiment sec est placé dans une fiole d'Erlenmeyer de 500 mL. À l'aide d'une aliquote de 25 mL d'eau désionisée distillée, on ajoute une concentration suffisante de produit toxique de référence pour obtenir l'enrichissement voulu du sédiment (mg/kg, en fonction de la masses sèche). Un sédiment de contrôle (non dopé) devrait recevoir une aliquote de 25 mL d'eau désionisée distillée. Les fioles sont scellées avec du papier d'aluminium et un ruban adhésif et conservées dans un agitateur pendant 5 jours (Birge et coll., 1987) ou agitées énergiquement pendant 60 s, deux fois par jour pendant 7 jours (Francis et coll., 1984), afin de favoriser une répartition homogène du produit toxique. Après le mélange, les suspensions de sédiment devraient être centrifugées afin d'éliminer l'eau. La teneur en eau du sédiment devrait être de 15 % à 20 % environ après la centrifugation. Une fois l'eau excédentaire enlevée, le sédiment préparé peut être placé dans les enceintes d'exposition pour l'essai biologique et recouvert d'eau de dilution, selon la méthode d'essai retenue. Les enceintes d'exposition de sédiment devraient être laissées intactes pendant 12 h au moins avant l'introduction des organismes soumis à l'essai (Birge et coll., 1987), afin que les particules fines du sédiment puissent se déposer.

Avant que cette technique ne puisse être utilisée dans un ESDPTR, l'homogénéité du sédiment dopé doit être vérifiée. En outre, les durées d'agitation requises pour l'obtention d'un mélange homogène doivent être normalisées en fonction du produit toxique de référence recommandé et peuvent très bien différer appréciablement des 5 jours suggérés. Cette méthode a donné de bons résultats avec des composé organiques, mais son utilité dans

l'évaluation de la toxicité de sédiments de contrôle dopés avec des composé inorganiques n'a pas encore été établie.

**c. Technique de dopage d'une suspension de sédiment** — La technique de dopage d'une suspension de sédiment (Cairns et coll., 1984; Schuytema et coll., 1984; Stemmer et coll., 1990; Landrum et Faust, 1991) est la plus simple et exige le moins d'équipement, sans compter que l'homogénéité de la répartition du produit toxique a été vérifiée (Landrum et coll., 1991, 1992; Landrum, 1994). L'eau de dilution (700 mL) et le sédiment (200 g, masse sèche) sont mis dans un bécher de 1 L, puis on ajoute la quantité souhaitée de produit toxique dissous dans 100 mL d'eau de dilution pour obtenir un rapport eau-sédiment de 4/1 (volume/masse). Ces mesures absolues ne sont pas obligatoires, pourvu que le rapport eau/sédiment soit maintenu. Le mélange devrait être agité à une vitesse moyenne à l'aide d'une tige ou d'un agitateur mécanique pendant 4 h au moins. On laisse le sédiment dans le bécher se déposer durant la nuit à la température prévue dans la méthode d'essai. L'eau excédentaire recouvrant le sédiment est décantée puis éliminée, et le mélange sédiment-produit chimique est réparti dans les récipients d'essai.

Cette méthode a servi à doper des sédiments avec des composés radio marqués ( $^3\text{H}$ -TCDD et  $^{14}\text{C}$ -OCDD) dans des études de biodisponibilité chez des oligochètes (Muir, 1993). Les composé ont été ajoutés dans de l'acétone (1 mL) à l'eau (500 mL), elle-même ajoutée ensuite à un sédiment humide agité lentement (5 kg; mass volumique humide de 1,6 kg/L). L'homogénéité du mélange a été évaluée par la mesure de sous-échantillons de sédiment et d'eau interstitielle. Après un temps d'équilibre de 10 jours, le mélange sédiment-produit chimique a été réparti dans les récipients d'essai et de l'eau sus-jacente a été ajoutée avec précaution pour minimiser la perturbation du sédiment de contrôle dopé. Les concentrations dans le sédiment mis dans les récipients d'essai

différait d'un échantillon parallèle à l'autre de 10 % pour la TCDD et de 26 % pour l'OCDD. Même si l'homogénéité du mélange obtenu à l'aide de la méthode de la suspension de sédiments a été démontrée, aucun des mélanges sédiment-produit chimique évalués ne contenait les produits toxiques de référence recommandés pour les ESDPTR.

### 6.2.3 *Mélange d'un sédiment dopé*

L'efficacité de la méthode de mélange de toutes les techniques de dopage par voie humide doit être vérifiée (c.-à-d., l'homogénéité du mélange expérimental) avant que l'on puisse utiliser l'une ou l'autre de ces techniques dans un ESDPTR. Trois sous-échantillons ou plus du sédiment dopé devraient être prélevés au hasard afin de doser la substance soumise à l'essai. Un coefficient de variation égal ou inférieur à 5 % est souhaitable et a pu être obtenu pour des substrats dopés avec du Cd à l'aide de la technique de rotation (Ditsworth et coll., 1990). Les techniques de la boue liquide et de la suspension permettent de doper la quantité appropriée de sédiment à utiliser comme échantillon individuel dans un essai, tandis que la méthode de rotation se prête davantage au dopage de lots plus importants de sédiment, lesquels peuvent être répartis en pseudo-échantillons parallèles.

Aucune étude publiée indiquant le temps requis pour obtenir un mélange homogène n'a été trouvée. Il a été suggéré de limiter le temps de mélange à quelques heures. Il a également été recommandé de procéder au dopage à une température minimale (c.-à-d., à la température de stockage de 4° C) afin de réduire le plus possible l'altération qui pourrait se produire à des températures plus élevées et qui pourrait ultérieurement modifier la biodisponibilité et la toxicité (ASTM, 1994a). Il est recommandé de procéder au dopage à la température de l'essai afin d'éviter les changements de toxicité (ou) de biodisponibilité du produit toxique que pourraient entraîner des modifications de l'équilibre chimique à des températures d'essai supérieures à 4° C.

Les composés organiques sont généralement ajoutés au moyen d'un solvant entraîneur comme l'acétone ou le méthanol afin d'en assurer la solubilité, y compris durant le mélange. Les métaux sont généralement ajoutés dans des solutions aqueuses (p. ex., de l'eau distillée pour les sédiments dulcicoles ou de l'eau de mer pour les sédiments marins). Lorsque des solvants organiques servent d'entraîneur, ils sont souvent ajoutés directement au sédiment (Adams et coll., 1980; Muir et coll., 1982; McLeese et coll., 1980), l'entraîneur étant évaporé avant l'addition d'eau. Cette méthode semble avoir pour résultat la sorption des composés en des endroits du sédiment qui diffèrent de ceux observés lorsque de l'eau est utilisée comme entraîneur (Håkanson, 1984). Word et coll. (1987) ont comparé plusieurs techniques de marquage des sédiments au moyen de chlorure de méthylène, d'éthanol et de glycine utilisés comme entraîneurs. Ils ont observé que la glycine était l'entraîneur le plus efficace après 7 jours de mélange. Dans la plupart des cas, le produit chimique (p. ex., le fluoranthène) est appliqué sur la paroi de la fiole (voir ci-dessous) avant l'ajout d'une boue aqueuse (du sédiment et de l'eau en différentes proportions) (Schults, 1992), ou encore l'entraîneur contenant le produit chimique est ajouté directement à la boue. Lorsque le rapport sédiment/eau est rajusté en fonction d'un mélange optimal, les sédiments trop denses pour être mélangés dans l'eau peuvent être mélangés à l'aide d'un dispositif de rotation (Ditsworth et coll., 1990; Swartz et coll., 1985). Il semble qu'une répartition plus homogène du produit toxique de référence dans les particules de taille différente du sédiment pourrait être obtenue si le produit chimique était ajouté goutte à goutte à la suspension de sédiment ou à la boue pendant que celle-ci est mélangée (Gambrell, 1993). Peu importe la méthode, il faudrait s'assurer qu'un mélange homogène est obtenu. Les recours à un entraîneur hydrosoluble polaire comme le méthanol exerce peu d'influence sur le partage des composés non polaires dans une matière organique dissoute à des concentrations allant jusqu'à 15 % d'entraîneur par volume (Webster

et coll., 1990). Une autre étude indique qu'un changement de partage d'un facteur de deux environ pourrait se produire en présence de 10 % de méthanol comme cosolvant pour la sorption de l'anthracène (Nkedi-Kizza et coll., 1985). L'effet exercé par le volume d'entraîneur sur le partage des produits chimiques organiques dans les sédiments est équivoque et l'utilisation de solvants pourrait être toxique pour les organismes, soit directement, soit indirectement (c.-à-d., accroissement de la demande en oxygène du sédiment résultant d'une dégradation du solvant par des microorganismes), de sorte qu'il importe de minimiser la quantité d'entraîneur utilisée. De plus, le recours à un entraîneur comme l'acétone pourrait provoquer une mise en équilibre plus rapide des matières organiques dopées (Schults, 1992). Le revêtement de la paroi de la fiole ou du bocal se fait à l'aide d'un mélange produit toxique-entraîneur. On laisse le solvant s'évaporer avant d'ajouter le sédiment. Le temps prévu entre le dopage des composés et l'emploi du sédiment d'essai est variable (ASTM, 1994c) et semble influencer sur la biodisponibilité des composés (Maleug et coll., 1986; Landrum et Poore, 1988; Landrum, 1989; Landrum et coll., 1992).

Si un solvant autre que l'eau est utilisé, il faut inclure dans l'essai tant un contrôle de sédiment avec solvant qu'un contrôle de sédiment contenant de l'eau uniquement. Le contrôle avec solvant doit contenir la concentration la plus élevée de solvant présente dans le sédiment d'essai et le solvant doit provenir du lot employé pour préparer la solution mère. Si l'on compte utiliser un solvant comme entraîneur d'un produit toxique de référence, on devrait exécuter un essai de toxicité au moyen du même lot d'organismes afin de déterminer si la croissance, la survie ou la reproduction des organismes est liée à la concentration de solvant pour la plage qui sera utilisée dans l'essai de référence. S'il existe un effet de solvant dans la plage de concentrations qui sera utilisée dans l'essai de référence, le solvant est inacceptable et une autre façon de procéder doit être trouvée.

### 6.3 *Confirmation chimique du dopage d'un sédiment et détermination des concentrations d'exposition*

Il est nécessaire de procéder à une confirmation chimique périodique des concentrations réelles du produit toxique ajouté à un sédiment afin de s'assurer que les concentrations d'exposition nominales correspondent aux concentrations d'exposition réelles dans le sédiment et l'eau interstitielle et afin de démontrer que les concentrations de produit toxique n'ont changé que de façon minime durant l'essai. En conséquence, il est recommandé d'analyser les solutions mères, l'eau interstitielle (qui peut être isolée du sédiment qu moyen des méthodes décrites dans Environnement Canada, 1994), des mélanges sédiment-produit chimique (analyses de la masse sèche en vrac) et les solutions d'essai (si elles sont étudiées) afin de déterminer les concentrations chimiques exactes auxquelles les organismes sont exposés. On peut également obtenir des renseignements utiles pour l'évaluation des doses efficaces ou des résidus corporels critiques en mesurant les résidus tissulaires ou les résidus corporels entiers chez les organismes exposés qui meurent et qui survivent.

Le produit toxique devrait être dosé tant dans l'eau interstitielle que dans le sédiment. Lorsqu'il faut procéder au dosage du produit chimique, des aliquotes d'échantillons devraient être tirées des concentrations d'essai élevées, moyennes et faibles, et préférablement toutes les concentrations d'essai, au début et à la fin de l'essai au moins. Elles devraient être conservées, stockées et analysées en conformité avec les meilleures méthodes établies pour le dosage d'un produit chimique particulier dans une solution aqueuse ou adsorbée sur un sédiment.

Il peut être difficile de prélever un volume d'eau interstitielle suffisant pour le dosage du fluoranthène à des concentrations peu élevées. Si

un faible volume d'eau interstitielle est requis pour les analyses chimiques, une seringue spéciale munie d'un filtre (0,45 µm) peut être insérée délicatement dans le centre de la colonne de sédiment, l'eau sus-jacente ayant été décantée soigneusement et les particules fines en surface ayant subi une perturbation minimale, de façon à ce qu'un volume d'eau interstitielle puisse être extraite du sédiment dopé, dans des récipients supplémentaires, par centrifugation à 10 000 G et à 4° C pendant 30 min à l'aide d'une centrifugeuse de grande capacité. On trouvera des détails précis sur les diverses méthodes d'extraction de l'eau interstitielle dans un document connexe (Environnement Canada, 1994, sous-section 2.9.3).

Dans certaines circonstances, il peut être impossible d'analyser les échantillons tant de l'eau interstitielle que de sédiment. Les conseils suivants s'appliquent aux cas où le produit toxique de référence est dosé uniquement dans des échantillons d'eau interstitielle. Si une **fraction constante** du produit toxique de référence est adsorbée sur le sédiment, les teneurs de l'eau interstitielle s'inscriront dans une série logarithmique et les échantillons d'eau interstitielle du sédiment dopé avec des concentrations faibles, moyennes et élevées du produit toxique de référence pourront être prélevées en vue du dosage. Toutefois, si un **quantité constante** de produit toxique de référence est adsorbée sur le sédiment de contrôle (adsorption non proportionnelle), les teneurs de l'eau interstitielle ne s'inscriront plus dans une série logarithmique et le produit toxique de référence devra être dosé dans les échantillons d'eau interstitielle tirés de chaque traitement (c.-à-d., pour chaque concentration d'exposition du produit toxique de référence).

Les concentrations d'exposition devraient être déterminées au moins quatre fois par années ou à tous les six essais environ, suivant le type d'essai et sa fréquence, ou encore lorsqu'un nouveau lot d'organismes est soumis à des essais, de façon à

confirmer que les concentrations nominales correspondent de façon acceptable aux concentrations réelles (c.-à-d. à 10 % près).

#### **6.4 Préparation des mélanges expérimentaux**

Le nombre de répétitions requis dans un essai dépend de l'essai lui-même; il est fonction surtout de l'espèce d'organisme soumise à l'essai et du résultat visé. Par conséquent, le nombre de répétitions devrait être précisé dans la méthode d'essai de toxicité ou dans le protocole utilisé. Ainsi, au moins six répétitions (5 avec 20 amphipodes chacune, une autre pour surveiller la qualité de l'eau et du sédiment) doivent être prévues pour chaque concentration de produit chimique dans l'essai biologique sur sédiment exécuté avec des amphipodes marins (Environnement Canada, 1992). Si aucune orientation quant au nombre de répétitions n'est fournie dans la méthode d'essai de toxicité, au moins trois répétitions par concentration mise à l'essai sont recommandées pour les essais de référence.

Pour ce qui est des essais de produit toxique de référence, cinq concentrations au moins et un contrôle sont normalement préparés. On peut utiliser une série de dilutions géométriques appropriées dans laquelle chaque concentration successive de produit chimique dans le sédiment représente au moins 50 % de la concentration précédente (p. ex., 10, 5, 2,5, 1,25 et 0,63 mg/kg); toutefois, toutes les concentrations d'exposition doivent être établies par dopage direct du sédiment. Les concentrations d'exposition ne devraient pas être obtenues par la dilution d'un mélange sédiment-produit chimique au moyen d'un sédiment «non contaminé». Les concentrations de produit chimique dans un sédiment devraient être calculées et exprimées en µg/g ou en mg/kg de masse sèche, et celles dans l'eau interstitielle devraient être exprimées en mg/L (Swartz et coll., 1985, 1988). Les concentrations d'essai peuvent également être

choisies dans d'autres séries de dilutions logarithmiques appropriées (voir l'annexe B). Afin de choisir une plage appropriée de concentrations efficaces, on peut exécuter un essai préliminaire couvrant un plus large éventail de concentrations. Les concentrations devraient être choisies de façon à provoquer un effet de 0 % et de 100 %, de même que des effets partiels au-dessus et en dessous du niveau de 50 %.

#### **6.5 Fréquence des essais**

Idéalement, les ESDPTR devraient être exécutés sur une base continue pour chaque type d'essai de toxicité aiguë mené en laboratoire afin que les temps de détection d'une condition anormale dans les stocks d'organismes soumis à l'essai soit réduit au minimum. Cette fréquence est souvent peu pratique dans le cas d'essais faisant appel à des organismes élevés en laboratoire. La fréquence des essais devrait être déterminée en fonction de l'expérience acquise durant l'élaboration d'une base de données sur les produits toxiques de référence (p. ex., après 15 à 20 essais). Des essais menés au moins tous les trois mois, et de préférence tous les deux mois, sont recommandés lorsque des cartes de contrôle (voir la section 7) ont été établies. Pour ce qui est des organismes non élevés en laboratoire, il est également prescrit de soumettre tous les stocks à des essais au moment de la réception et juste avant que le stock ne soit épuisé afin que l'on puisse déterminer si :

- a. la sensibilité du stock au produit toxique de référence est semblable à celle des stocks antérieurs;
- b. la sensibilité du stock au produit toxique de référence a changé de façon appréciable durant sa conservation dans le laboratoire.

Les ESDPTR devraient être exécutés plus souvent (p. ex. au moment de la réception des organismes dans le laboratoire ou lorsque les protocoles sont modifiés) afin que les limites de

contrôle de 95 % puissent être établies vers le début du programme. Il est recommandé d'exécuter un essai de référence sur sédiment dopé en même temps que chacun des essais de toxicité durant les premiers mois afin d'établir un coefficient de variation (voir la section 7) pour l'essai. Lorsque 10 essais environ ont été exécutés sans qu'il y ait une grande modification du coefficient de variation, la fréquence peut être réduite. À titre d'indication pour les essais de produit toxique de référence hydriques, un coefficient de variation égal ou inférieur à 30 % est généralement considéré comme acceptable pour un résultat biologique (Environnement Canada, 1990). En attendant que d'autres données soient disponibles pour les ESDPTR, un coefficient de variation égal ou inférieur à 30 % est recommandé comme valeur maximale admissible pour les essais eux-mêmes et d'un essai à l'autre. Les laboratoires auraient avantage à ne signaler les observations découlant de nouveaux essais que lorsque des résultats uniformes peuvent être obtenus avec des produits toxiques de référence.

## **6.6 Observations et mesures expérimentales**

Au moment où l'ESDPTR est mis en place, on devrait procéder à une description qualitative de chaque mélange sédiment-produit chimique et de l'eau sus-jacente. Cette description pourrait comprendre des observations sur la couleur, la texture et l'homogénéité de chaque mélange et sur la couleur et l'opacité de l'eau sus-jacente. On devrait noter tout changement dans l'aspect du mélange ou de l'eau et ce, au cours de l'essai ou au terme de l'essai. On devrait procéder à des mesures quotidiennes de la qualité (p. ex., la température) de chaque mélange soumis à l'essai (y compris les mélanges de contrôle) et de l'eau sus-jacente, conformément aux instructions accompagnant la méthode d'essai utilisée.

Le produit toxique de référence devrait être dosé dans le sédiment et (ou) dans l'eau interstitielle

(voir la sous-section 6.3). Dans tous les essais au cours desquels on mesure les concentrations, les résultats de toxicité devraient être calculés et exprimés en fonction des concentrations moyennes mesurées dans le sédiment entier et l'eau interstitielle, à moins qu'il n'y ait de bonnes raisons de croire que les mesures chimiques ne sont pas exactes.

## **6.7 Résultats des essais et calculs**

Dans la plupart des cas, le résultat principal d'un ESDPTR est la valeur de la CL50 (fondée sur le pourcentage de mortalité). Si l'on étudie un plage appropriée de concentrations du produit chimique dans le sédiment, on peut utiliser les données sur la mortalité à chaque concentration pour calculer la CL50 et ses limites de confiance de 95 %. Afin d'estimer la CL50, on corrige les données de mortalité à la fin de l'étude en fonction de la mortalité des organismes de contrôle et on les compile pour toutes les répétitions de chaque concentration. Lorsque la mortalité n'est pas égale ou supérieure à 50 % dans au moins une concentration, il est impossible d'estimer la CL50. Lorsque la mortalité est nulle à une certaine concentration, on considère que l'effet correspond à 0 % de mortalité. Cependant, lorsque la mortalité est nulle dans un série de concentrations successives, une seule de ces valeurs devrait être utilisée pour l'évaluation de la CL50; il s'agit du résultat associé à la plus forte concentration, c'est-à-dire de l'effet nul qui est «le plus près du centre» de l'intervalle de distribution des données. De la même façon, s'il y avait une série de taux de mortalité de 100 % à des concentrations élevées dans un essai, une seule valeur correspondant à un effet de 100 % serait utilisée; là encore, ce serait celle qui est «le plus près du centre» de l'intervalle des valeurs, c'est-à-dire l'effet de 100 % à la plus faible de ces concentrations. L'utilisation d'une seule valeur correspondant à un effet de 0 % et d'une seule valeur correspondant à un effet de 100 % s'applique à l'analyse des données par programme

informatique ou par établissement manuel d'un graphique (voir ci-dessous). L'utilisation de valeurs additionnelles de 0 % ou de 100 % pourrait fausser l'estimation de la CL50.

On peut utiliser différents programmes informatiques pour calculer le résultat de l'essai. Stephan (1977) a mis au point un programme de calcul de la CL50 qui fait appel à trois méthodes (probits, moyenne mobile et binomiale) et l'a adapté aux ordinateurs personnels compatibles IBM. Il permet également de calculer la CL50 à l'aide de logits. Ce programme en BASIC est recommandé; il est possible d'en obtenir une copie sur disquette<sup>1</sup> auprès d'Environnement Canada (Région du Pacifique et du Yukon, 224, rue Esplanade, North Vancouver, C.-B. V7M 3S7). Un programme efficace d'analyse des probits sur micro-ordinateur est également offert par Hubert (1987); en outre, on peut utiliser d'autres méthodes manuelles et informatiques qui donnent des résultats satisfaisants (APHA et coll., 1989; USEPA, 1991).

Le programme de Stephan (1977), que nous recommandons, fournit des estimations de la CL50 et des limites de confiance selon chacune des trois méthodes précitées, pourvu que l'ensemble des données comprenne au moins deux cas où une partie des organismes sont morts. Avec des données uniformes ou régulières, les trois estimations seront sans doute semblables, et les valeurs fournies par l'analyse des probits devraient être préférées aux autres et consignées dans le procès-verbal de l'essai. L'estimation binomiale pourrait différer quelque peu des autres. Lorsqu'il n'y a pas, dans les résultats, deux cas où une partie des organismes sont morts, seule la méthode binomiale fonctionne; elle peut être appliquée pour obtenir la meilleure estimation possible de la CL50, avec des limites de confiance prudentes (étendues).

Toute CL50 qui résulte de calculs informatiques

devrait être vérifiée au moyen d'un graphique, sur échelle de probabilité logarithmique, du pourcentage de mortalité à la fin de l'étude aux différentes concentrations d'essai (APHA et coll., 1989). Tout écart important entre la CL50 estimée sur ce graphique et la valeur calculée par ordinateur doit être résolu.

La figure 1 présente une courbe tracée à la main des données sur la mortalité et les concentrations, de même que la CL50 estimative (calculée). Dans cet exemple théorique, 100 amphipodes (5 répétitions avec 20 organismes par concentration) ont été exposés à chacune des cinq concentrations.

Cette figure se fonde sur des concentrations de 1,8, 3,2, 5,6, 10 et 18 mg de produit chimique par kilogramme de sédiment (masse sèche) ayant entraîné la mort de 0 %, 20 %, 40 %, 90 %, et 100 % des amphipodes exposés aux concentrations respectives pendant 10 jours. On peut établir la concentration que l'on prévoit être létale pour 50 % des organismes en suivant la ligne pointillée à partir du niveau de 50 % jusqu'à son intersection avec la ligne ajustée, puis en passant à l'axe horizontal pour une estimation de la CL50 (5,6, mg/kg). En traçant une droite comme celle de la figure 1, on devrait attribuer relativement plus d'importance aux points qui sont proches de 50 % de mortalité. On peut se procurer du papier graphique de probabilité logarithmique («log-probit»), comme à la figure 1) dans toutes les bonnes librairies à vocation technique, ou en commander par leur entremise. Les programmes informatiques ont donné des estimations très proches de celles de l'exemple de la figure 1. Les CL50 (et leurs limites de confiance de 95 %) étaient les suivantes :

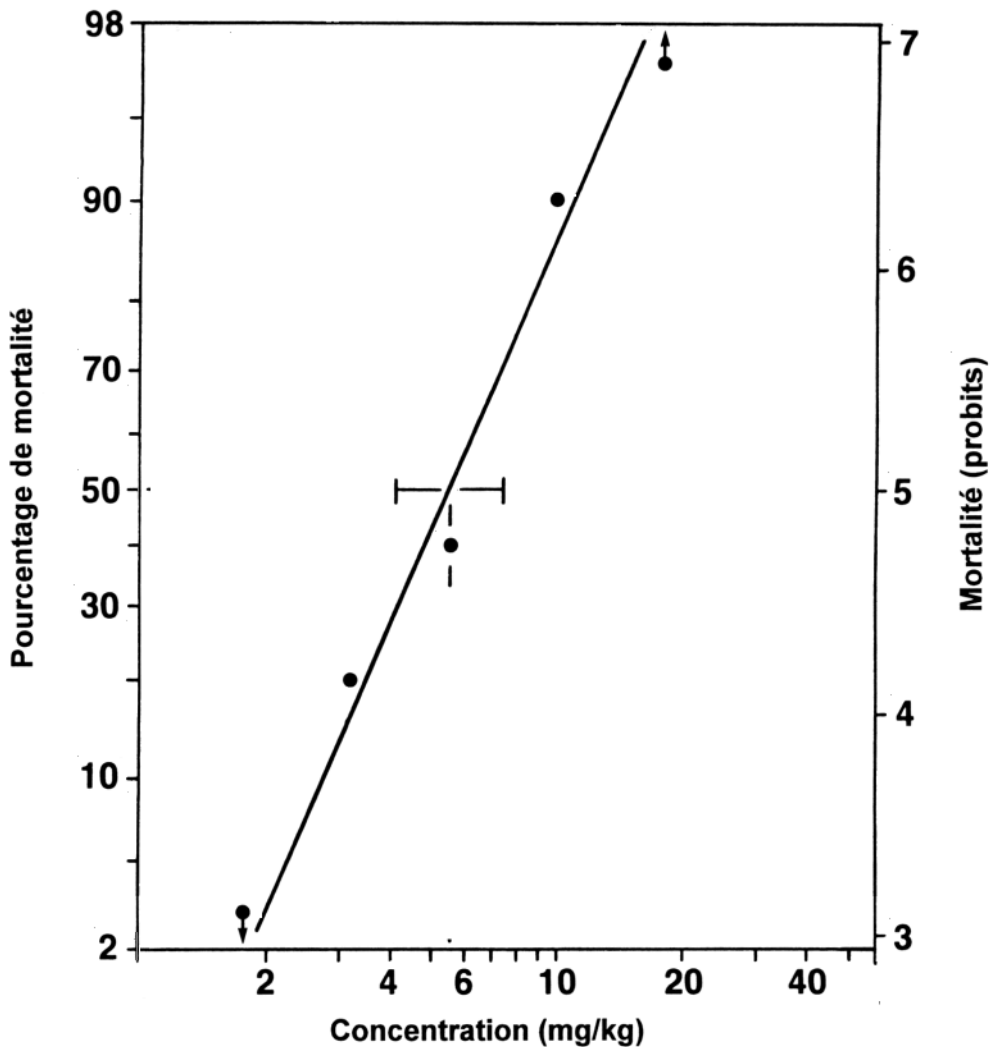
analyse des probits de  
Hubert (1987) : 5,56 (4,28 à 7,21)

méthode de Stephan (1977) -

probits : 5,58 (4,24 à 7,37)  
moyenne mobile : 5,58 (4,24 à 7,33)  
binomiale : 6,22 (1,8 à 10)

<sup>1</sup> Avec la permission de Charles E. Stephan (U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota).





**Figure 1** Estimation de la concentration létale médiane par la représentation graphique de la mortalité sur papier de probabilité logarithmique

Les limites de confiance n'ont pas été évaluées dans la méthode binomiale, mais deux concentrations ont été choisies dans l'essai à titre de limites extrêmes d'un intervalle à l'intérieur duquel se trouveraient les vraies limites de confiance.

On peut analyser les données sur les effets sublétaux obtenues dans des essais à concentrations multiples afin de calculer des CE50 et leurs limites de confiance de 95 %. On

devrait déterminer des CE50 distinctes pour chacune des réactions sublétales quantifiées (p. ex., le pourcentage des amphipodes survivants qui ont émergé du sédiment au 10<sup>e</sup> jour et le pourcentage de ceux qui ne s'enfouissent pas de nouveau dans le sédiment de contrôle à la fin de l'essai). Les méthodes statistiques appliquées au calcul de ces résultats sont les mêmes que celles décrites précédemment pour la détermination de la CL50.

Si le produit toxique de référence a été ajouté au sédiment de contrôle à l'aide d'un solvant entraîneur, l'une des contrôles expérimentaux sera constitué du sédiment de contrôle dopé avec le solvant uniquement, en plus du contrôle expérimental constitué uniquement du sédiment de contrôle (c.-à-d., sans solvant ni produit toxique de référence). Les résultats de l'essai seraient considérés comme inacceptables si plus de 20 % des organismes soumis à l'essai dans l'un ou l'autre traitement mouraient durant la période d'exposition. Si l'on a recours, dans un même essai, à un contrôle constitué d'un sédiment non contaminé et à un contrôle avec solvant, on devrait comparer statistiquement les résultats pour chacun de ces contrôles. Le test du

chi carré (Steel et Torrie, 1960) peut être appliqué à cette fin. Si un écart statistiquement significatif est constaté entre les deux contrôles, seul le contrôle avec solvant peut être utilisé pour calculer la CE50 et (ou) la CL50. Si l'on ne constate pas d'écart statistiquement significatif, on peut réunir les données provenant des deux contrôles pour assurer la validité de l'essai et comme base de calcul de la CL50 et, au besoin, d'une CE50 (ASTM, 1994c). S'il existe un écart statistiquement significatif entre le contrôle avec solvant et le contrôle sans solvant, l'essai devrait être répété au moyen d'un produit toxique de référence qui n'exige aucun solvant, ou avec un solvant dont l'effet ne diffère pas de celui du contrôle sans solvant.

## Cartes de contrôle

Les discussions de la présente section supposent une connaissance pratique des fonctions et notions statistiques de base (p. ex., moyenne, écart type, intervalles de confiance, régression linéaire, écart significatif), de même qu'une certaine sensibilisation du lecteur à la préparation et au rôle des cartes de contrôle dans les programmes d'AQ/CQ (Environnement Canada, 1990). On peut acquérir des connaissances fondamentales des méthodes statistiques en consultant certains textes de base (Sokal et Rohlf, 1981; Zar, 1984).

### 7.1 Préparation et mise à jour des cartes de contrôle

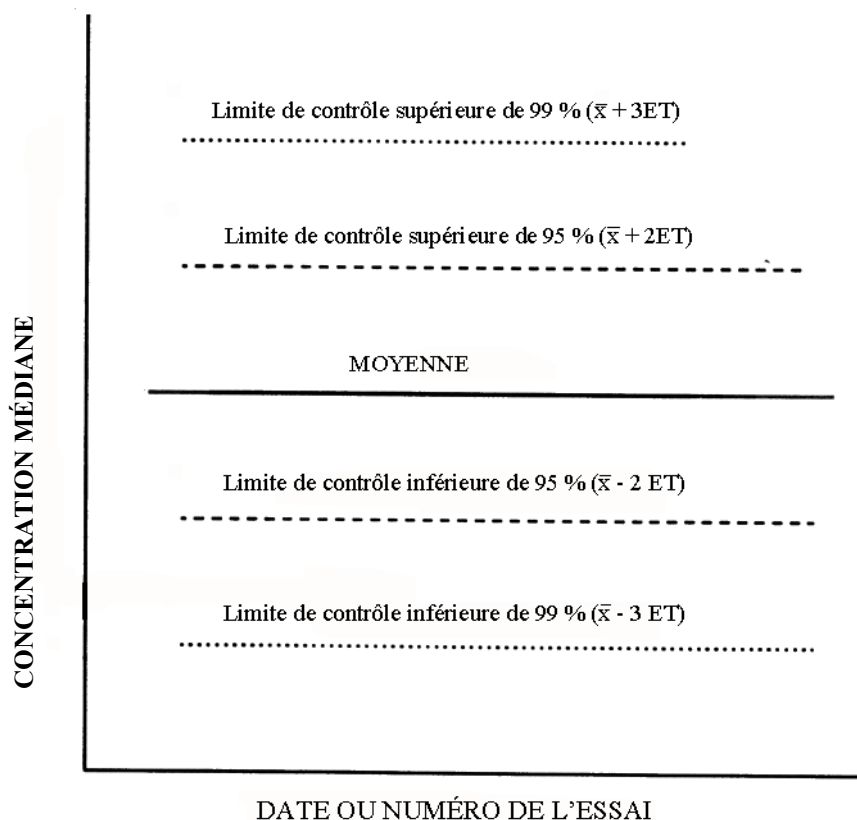
Les résultats des ESDPTR servent à préparer des cartes de contrôle démontrant que le personnel de laboratoire a réussi à obtenir des résultats précis et cohérents à l'aide d'un organisme donné et de la méthode d'essai en question.

Le résultat d'une série d'ESDPTR consécutifs sont tracés sur un diagramme dont l'abscisse indique la date ou le numéro des essais et l'ordonnée, la concentration correspondant à un effet précis. Dans les essais de toxicité aiguë, les valeurs portées en ordonnée sont normalement celles de la CL50 et de la CE50, qui sont des variables continues permettant d'estimer la concentration, ou concentration log, entraînant un effet chez 50 % des organismes soumis à l'essai et qui sont normalement signalées avec leurs intervalles de confiance calculés. Dans les essais de toxicité chronique, une méthode d'analyse courante consiste à vérifier une hypothèse, qui comporte des variables correspondant à une seule des concentrations soumises à l'essai (c.-à-d., la CSEO ou la CMEO) ou à la moyenne géométrique de la CSEO et de la CMEO (c.-à-d., la valeur chronique ou la concentration à effet de seul). Ces variables discrètes ne se prêtent pas à

la préparation des cartes décrites ici. Une autre variable d'effet dans les essais de toxicité chronique est un changement de vitesse ou variable graduée appelée CIp (p. ex., CI50, CI25, etc.), pour laquelle des limites de confiance peuvent également être calculées (Norberg-King, 1988).

L'écart moyen et l'écart type des données d'une série d'ESDPTR peuvent servir à définir une plage de variabilité «normale» ou «acceptable» dans l'essai. Ainsi, la CL50 moyenne (arithmétique ou transformée) et l'écart type peuvent être calculés par une série d'essais de toxicité menés dans un même laboratoire au cours d'une certaine période. Si la taille de l'échantillon est suffisamment grande (p. ex., 15 à 20 points de données), les concentrations correspondant au double de l'écart type au-dessus et en dessous de la moyenne ( $\bar{x} \pm 2 \text{ ET}$ ) représentent les limites de confiance supérieure et inférieure à 95 %, respectivement, pour cet ensemble de données. Ces courbes («limites de contrôle de 95 %») sont alors tracées sur la carte de contrôle (figure 2). À un niveau de confiance de 95 %, on s'attendrait à ce qu'une analyse sur vingt (5 %) s'inscrive en dehors des limites par le seul jeu du hasard. L'interprétation des données aberrantes est abordée à la sous-section 7.2.

Les concentrations correspondant à la moyenne plus ou moins trois fois l'écart type ( $\bar{x} \pm 3 \text{ ET}$ ) représentent les limites de confiance de 99,7 % (99 % ci-après). À ce niveau de confiance, la probabilité que des données s'inscrivent en dehors des limites par le seul jeu du hasard n'est que de 0,3 % (1 essai sur 333). L'inclusion des limites de 99 % dans la carte de contrôle est utile pour l'interprétation du degré d'aberrance des données. Des données très aberrantes (en dehors de la limite 99 %) ne devraient servir dans aucun calcul des limites.



**Figure 2 Exemple d'une carte de contrôle**

Les statistiques décrites ci-dessous reposent sur un certain nombre d'hypothèses, l'une d'elles étant qu'un nombre suffisant d'essais a été exécuté pour établir une plage représentative de la variabilité. Pour s'assurer qu'il en est ainsi, il pourrait être nécessaire de mener de 15 à 20 essais (Dux, 1986). Le temps requis pour ces essais pourrait être considérable (surtout dans le cas des essais de toxicité chronique) et le laboratoire voudra probablement évaluer la précision de l'essai de toxicité avant ce laps de temps. L'USEPA exige qu'au moins cinq essais soient exécutés avant que les limites de 95 % ne soient établies (Weber et coll., 1989). Le personnel du laboratoire ne devrait pas oublier que, tant qu'un nombre élevé d'essais n'a pas été achevé, les limites sont susceptibles d'être modifiées par l'addition de chaque nouveau point à l'ensemble de données. Les limites se stabilisent généralement avec le temps, pourvu que les organismes élevés en laboratoire soient

en bon état et que leur sensibilité au produit toxique ne change pas. Les organismes prélevés sur le terrain pourraient manifester des différences saisonnières de sensibilité.

La distribution normale des données constitue une autre hypothèse statistique. Le test de normalité de Shapiro-Wilks (Sokal et Rohlf, 1981) devrait être exécuté avant la préparation d'une carte de contrôle. Si les données brutes sont distribuées normalement, on utilise la moyenne arithmétique et l'écart type. Dans le cas contraire, il faut normaliser les données. L'expérience a montré qu'une transformation logarithmique permet habituellement de normaliser les données non normales de la CL50, mais cette normalisation devrait être confirmée pour chaque ensemble de données. De telles données peuvent être tracées sur l'échelle transformée ou originale. Si l'on utilise une échelle arithmétique, la carte de contrôle

indiquera la moyenne logarithmique (géométrique) des données et les limites de confiance connexes de 95 % et de 99 % ne seront pas équidistantes de la moyenne.

Si une transformation logarithmique ne permet pas de normaliser les données, il faut trouver une méthode appropriée. Une transformation arc-sinus est souvent utilisée pour convertir des données en pourcentage (binomiales) en données distribuées normalement (Dowdy et Wearden, 1983). Parmi les autres possibilités, on compte la normalisation logarithmique naturelle, la somme des carrés, la racine cubique et la racine quadratique des données. Le laboratoire pourrait choisir d'utiliser la méthode de probabilité maximale formulée par Box et Cox (1964) afin d'établir une normalisation optimale.

Des cartes de contrôle distinctes devraient être préparées pour chaque combinaison de méthode d'essai de produit toxique de référence et d'espèce d'organisme. Chaque nouveau résultat d'essai (CL50, CE50, ou CI50) devrait être comparé aux limites de contrôle établies de 95 % et, s'il s'inscrit dans les limites, il devrait être inclus dans l'ensemble des données. L'interprétation des données inhabituelles ou aberrantes est abordée à la sous-section 7.2.

Dans l'établissement des limites de contrôle de 95 % ou de 99 %, il faut également tenir compte du fait que les données présentant un degré élevé de variabilité entraîneront un écart type considérable par rapport à la moyenne, les limites de contrôle de 95 % étant alors étendues. Par conséquent, même si le laboratoire ne produisait pas de résultats cohérents, il pourrait être en mesure de montrer que les données s'inscrivent à l'intérieur des limites de contrôle de 95 %. Aucune norme reconnue relativement à l'étendue des limites de confiance de 95 % n'a été trouvée dans la documentation publiée par les organismes de réglementation ayant établi les exigences relatives aux essais de produits toxiques de référence (comme l'USEPA). Un coefficient de

variation objectif ( $\% CV = 100 ET/\bar{x}$ ) de 20 % pour chaque essai de toxicité purement hydrique est proposé (Environnement Canada, 1990). Il est reconnu, toutefois, que des facteurs comme le degré de normalisation de chaque méthode d'essai influenceront eux aussi sur la reproductibilité des essais. Un coefficient de variation plus élevé (p. ex., 30 %) pourrait être plus réaliste pour certains essais. Il ne sera pas possible d'établir des limites précises quant à l'étendue des limites de contrôle de 99 % tant que des données suffisantes n'auront pas été recueillies auprès des laboratoires dans l'ensemble du Canada pour confirmer le degré de reproductibilité pouvant être atteint.

Les données devraient être emmagasinées par voie électronique à l'aide d'un logiciel tableur afin de faciliter un nouveau calcul de l'écart moyen et de l'écart type pour chaque ensemble de données. Les cartes peuvent être tracées manuellement, mais les logiciels tableurs vendus sur le marché faciliteront leur traçage et leur mise à jour.

## 7.2 *Interprétation des données*

### 7.2.1 *Limites de contrôle de 95 %*

Comme il est indiqué plus haut, à un niveau de confiance de 95 %, on pourrait s'attendre à ce que 5 % des résultats s'inscrivent en dehors des limites de contrôle de 95 % par le seul jeu du hasard. Un cas aberrant devrait donner lieu à une révision du système d'essai. Une préparation erronée de la solution mère, une erreur de calcul dans la dilution ou encore des organismes soumis à des contraintes ou insuffisamment nourris sont quelques-uns des facteurs possibles. Il est particulièrement important d'examiner les autres mesures de l'AQ/CQ du laboratoire. Un examen de la survie des organismes de contrôle durant les essais, du succès de la reproduction des organismes d'élevage, du temps écoulé jusqu'à la première ponte dans les élevages d'invertébrés (et dans les essais, le cas échéant), des niveaux d'oxygène dissous, de la température d'essai,

etc., fournira des indications importantes qui permettront de déterminer si le cas aberrant est le résultat du hasard ou, ce qui est plus probable, d'un changement ou d'un problème survenu dans le système d'essai.

Si un cas aberrant (dans les limites de contrôle de 95 %) peut être attribué à un problème particulier du système d'essai (p. ex., une erreur dans la dilution, un calcul erroné des données, le mauvais état de santé des organismes), la valeur ne devrait pas être incluse dans un nouveau calcul des limites. Si le cas aberrant semble représenter une variabilité normale, il devrait être inclus dans l'ensemble des données (voir la sous-section 7.2.2).

Si le cas aberrant n'est pas expliqué ou s'il est rattaché à un facteur qui est commun aux autres essais, il pourrait être nécessaire de signaler comme douteuses les données tirées d'autres essais de toxicité du même type (p. ex., les essais menés avec les organismes du même lot et selon la même méthode d'essai) exécuté durant cette période (c.-à-d., correspondant à celle de l'essai du produit toxique de référence). À titre d'exemple, si un résultat aberrant d'un essai de produit toxique de référence mené avec *C. tentans* était attribuable à des conditions d'élevage médiocres (p. ex., à l'entassement) durant ce temps, les autres essais menés avec *C. tentans* pourraient être douteux. Par contre, si un cas aberrant se rapporte à une erreur de préparation de la solution mère servant au dopage des sédiments, les résultats d'essais simultanés sur sédiment peuvent être tout à fait acceptables, puisque les sédiments utilisés pour les deux essais sont préparés selon des méthodes différentes. Dans l'un et l'autre cas, les données en question (p. ex., les résultats des essais sur sédiment prélevé sur le terrain) devraient être signalés avec une note décrivant l'interprétation des résultats pour le produit toxique de référence et d'autres données pertinents sur l'AQ/CQ. La donnée sur le produit toxique de référence (p. ex., la CL50) à signaler pour chaque série de

données sur les essais courants devrait provenir du plus récent essai de produit toxique de référence. Par conséquent, la période à laquelle s'applique chaque donnée liée au produit toxique de référence dépend de la fréquence choisie des essais. Dans le temps, la fréquence des données qui s'inscrivent en dehors des limites de 95 % devrait se rapprocher de 5 %. Si la fréquence dépasse 5 %, on a affaire à un calcul erroné des limites ou à une détérioration de la précision. Une fréquence de moins de 5 % pourrait également indiquer un calcul erroné des limites de contrôle de 95 % ou encore une précision accrue des essais. Dans ce dernier cas, il pourrait être souhaitable, pour le laboratoire, de remanier les limites de contrôle de 95 % en fonction de données plus récentes afin de surveiller de plus près et de maintenir cette précision accrue.

### 7.2.2 *Limites de confiance*

Il est peu probable qu'un cas aberrant par rapport à des limites de confiance de 99 % (p. ex., limite de contrôle de 99 %, figure 2) se produise par le seul jeu du hasard. Une telle donnée est considérée «hors contrôle». Le système d'essai devrait être réexaminé (voir la sous-section 7.2.1). Même si une explication précise ne peut pas être trouvée pour le cas aberrant, celui-ci ne devrait pas être attribué au hasard. Les données simultanées pour ce système d'essai devraient toujours être signalées comme douteuses. Le cas aberrant ne devrait pas être utilisé dans un nouveau calcul des limites de confiance de 95 % et de 99 %.

### 7.2.3 *Tendances des données*

Il est important non seulement de vérifier si chacun des points de données s'inscrit ou non dans les limites de contrôle établies de 95 %, mais également de surveiller les tendances ou l'évolution des données. Des données hors contrôle peuvent être évitées si l'on détecte une tendance dès le début. En théorie, la probabilité qu'une même valeur se situe au-dessus ou en dessous de la moyenne est de 50 % (une fois sur deux) (en supposant des sources de variation

aléatoires). La probabilité que deux points successifs se trouvent du même côté de la ligne moyenne est de 25 % (une fois sur quatre).

La probabilité que «n» points se trouvent du même côté de la ligne moyenne est donc de  $1/(2^n)$ . Si  $n = 5$ , la probabilité qu'ils s'agisse d'un hasard n'est que de 3 % environ. Par conséquent, si cinq points consécutifs ou plus se trouvent du même côté de la ligne moyenne, on devrait prendre des mesures pour détecter la source du biais (Dux, 1986).

#### **7.2.4 Formation des nouveaux techniciens**

Les résultats des essais dans lesquels un sédiment de contrôle est dopé avec un produit toxique de référence peuvent servir à évaluer les progrès réalisés par le nouveau personnel. Les nouveaux techniciens devraient être tenus d'exécuter une série d'essais de produit toxique de référence de façon à montrer qu'ils peuvent obtenir régulièrement des résultats qui s'inscrivent dans les limites de contrôle établies de 95 %.

## Tenue des dossiers et compte rendu des données

Les fiches de données brutes de chaque type d'essai devraient être classées ensemble et conservées dans un endroit central facile d'accès. Il est extrêmement important que toute l'information pertinente figure sur ces fiches (sur papier, sur support électronique ou les deux à la fois) : données d'essai, date de préparation de la solution mère, conditions habituelles, nom du technicien responsable, etc. Une documentation complète peut réduire le temps et les coûts associés au dépistage de la source des données hors contrôle.

Un responsable de l'AQ devrait être chargé de surveiller et de mettre à jour les méthodes d'AQ/CQ du laboratoire. Il devrait également être chargé d'établir le calendrier des essais de produit toxique de référence. Ce calendrier devrait respecter les exigences énoncées antérieurement.

Lorsqu'un essai de produit toxique de référence a été achevé et analysé, le superviseur du laboratoire devrait vérifier les données. Les données brutes et les résultats devraient ensuite être transmis au responsable de l'AQ qui les comparera aux limites de contrôle de 99 %. Les données aberrantes devraient donner lieu à une étude immédiate. Comme il est précisé dans la sous-section 7.2, une telle étude pourrait révéler que les autres données recueillies à partir d'un même méthode d'essai sont douteuses. Dans ce cas, il serait souhaitable que le laboratoire reprenne les essais douteux après avoir appliqué des mesures correctives. Toutefois, une telle démarche est généralement impossible à cause du volume limité ou du vieillissement des échantillons. À titre de solution de rechange, le laboratoire devrait signaler les résultats de l'essai de produit toxique de référence en fournissant toutes les données douteuses, de même qu'une interprétation des résultats en ce qui a trait à la qualité des données.

Le compte rendu des résultats d'un ESDPTR acceptable devrait comprendre ce qui suit:

- le nom du chercheur, le nom de l'établissement et l'endroit de l'essai, les dates de début et de fin de l'essai;
- la source du sédiment de contrôle et (ou) des constituants, y compris les méthodes ou conditions de prélèvement, de manipulation, de transport, de stockage, de formulation et d'élimination du sédiment;
- la source du produit toxique de référence, le numéro du lot et son degré de pureté;
- la source du solvant (le cas échéant), le numéro du lot, son degré de pureté, la ou les concentrations utilisées dans le contrôle avec solvant;
- la source et la composition chimique de l'eau sus-jacente;
- la source, les antécédents et l'âge des organismes et du stock géniteur (le cas échéant) soumis à l'essai, la vérification taxonomique des espèces soumises à l'essai, y compris le nom de la personne qui a identifié les organismes, de même que la ou les clés taxonomiques utilisées, les stades du cycle biologique, les moyennes et les plages de masse corporelle et de longueur des organismes soumis à l'essai, le temps de détention, le temps d'acclimatation, les méthodes et (ou) les conditions d'élevage, la source et la composition des aliments et la fréquence de l'alimentation;
- les méthodes de préparation des concentration d'exposition;



- le plan de l'expérience, y compris le nombre de traitements (p. ex., les concentrations d'essai et le ou les contrôles), le nombre de répétitions par traitement, le nombre d'organismes par répétition, les mesures effectuées et leur fréquence;
- les conditions expérimentales, y compris une description des enceintes d'essai (p. ex., l'éclairage, la température, la photopériode), la profondeur et la masse ou le volume du sédiment et de l'eau sus-jacente pour chaque répétition, une description du type de récipient d'essai (p. ex., les dimensions, le type de matériau), et de l'aération avant ou durant un essai;
- une description de la ou des méthodes utilisées pour doper le sédiment de contrôle avec un produit toxique de référence, y compris la fréquence et la durée des mélanges, le temps de décantation et le temps écoulé entre l'ajout du produit chimique qu sédiment et l'introduction des organisme étudiés dans le récipient d'essai (c.-à-d., le temps d'équilibre);
- la composition du sédiment, de l'eau interstitielle et de l'eau sus-jacente, y compris une indication ou une description des méthodes analytiques;
- les résultats biologiques des essais, un résumé des effets observés, un résumé des données sous forme de tableau et une description des méthodes utilisées pour l'analyse statistique des données et des résultats.

## Recherches futures

Le recours habituel à des essais de toxicité sur sédiment entier à des fins scientifiques et réglementaires nécessite la mise en place d'essais dans lesquels un sédiment de contrôle est dopé avec un produit toxique de référence. Toutefois, le dopage de sédiments avec un produit chimique est une démarche scientifique relativement nouvelle et il existe un besoin d'information dans plusieurs secteurs critiques de la mise au point de méthodes d'essai appropriées. Les secteurs clés qui exigent des recherches plus poussées sont les suivants :

1. mise au point et évaluation de techniques assurant un mélange homogène du produit chimique dans le sédiment;
2. étude des effets du temps de stockage et du temps d'équilibre sur la toxicité dans le sédiment dopé;
3. mise au point de sédiments artificiels ou formulés destinés à des essais de référence sur sédiment entier;
4. démonstration de la supériorité des ESDPTR par rapport aux essais purement hydriques;
5. évaluation de la supériorité d'une méthode de dopage du sédiment par rapport à une autre pour les produits toxiques de référence envisagés;
6. évaluation de la relation entre la concentration produisant un effet et les diverses caractéristiques d'un sédiment afin de déterminer l'influence de chacune sur la toxicité;
7. mise au point, amélioration et normalisation des techniques servant à isoler l'eau interstitielle et à déterminer la quantité de

produit toxique dissous librement dans l'eau interstitiel isolée.

À l'heure actuelle, il n'existe pas suffisamment de données pour confirmer l'homogénéité des mélanges sédiment-produit chimique. L'homogénéité des techniques de mélange devrait être vérifiée pour différents types de sédiment et pour des produits toxiques de référence tant organiques qu'inorganiques. Des essais devraient également être menés pour déterminer si les techniques de mélange modifient ou non la taille des particules du sédiment de contrôle et dans quelle mesure. Il faudrait aussi déterminer si l'homogénéisation du sédiment de contrôle avant le dopage et l'oxydation du sédiment durant le dopage auront un effet sur les propriétés de liaison et les caractéristiques toxicologiques du sédiment.

Il y a lieu de mener des recherches supplémentaires afin de déterminer combien de temps d'équilibre devrait être prévu pour un sédiment dopé avant le début d'un essai de toxicité. Des méthodes normalisées sont également requises pour la mesure même de la mise en équilibre. D'un point de vue toxicologique, la mise en équilibre pourrait être passablement différente de l'équilibre chimique. Des recherches sur la relation entre les teneurs de l'eau interstitielle par rapport aux concentrations additionnées et aux teneurs du sédiment devraient être effectuées à la lumière des taux de mortalité observés.

Afin d'éliminer la variation associée au prélèvement sur le terrain des sédiments de contrôle, il est vivement recommandé de mettre au point un certain nombre de sédiments artificiels ou formulés «normalisés» pour les essais de toxicité sur sédiment entier marin, estuarien et dulcicole. Deux caractéristiques

essentielles de ces sédiments sont l'uniformité des propriétés physico-chimiques d'un lot à l'autre (p. ex., la répartition granulométrique, la teneur en carbone organique) et un comportement acceptable et uniforme des organismes tout au long d'un essai. Il existe un besoin d'analyses comparatives permettant de déterminer les avantages des ESDPTR dans l'évaluation de la précision interlaboratoire des essais sur sédiment dopé.

Des recherches plus poussées sont également requises afin de déterminer l'efficacité des

produits chimiques proposés et d'autres produits toxiques de référence destinés à des essais de référence sur sédiment de contrôle dopé, surtout en ce qui concerne les composés organiques. Le fluoranthène ne constitue pas nécessairement le meilleur produit toxique de référence organique pour les ESDPTR, mais c'est le seul qui soit suffisamment documenté pour se prêter à une évaluation quant à son utilité comme produit toxique de référence.

## Références

---

- Adams, W.U., R.A. Kimerle, et R.G. Mosher, 1995. "Aquatic Safety Assessment of Chemicals Sorbed to Sediments", pp. 429–453, In: *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment*, R.D. Cardwell, R. Purdy, and R.C. Bahner (réd.), American Society for Testing and Materials, Philadelphie, PA.
- Ankley, G. et R. Swartz, United States Environmental Protection Agency (USEPA), communication personnelle (1994).
- Ankley, G.T., V.R. Mattson, E.N. Leonard, C.W. West, et J.L. Bennett. 1993. Predicting the acute toxicity of copper in freshwater sediments: evaluation of the role of acid-volatile sulphide. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12:315–320.
- APHA, AWWA, et WPCF (American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation), 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17<sup>e</sup> éd., Washington, DC.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), 1994a. "Standard Guide for Conducting 10-day Static Sediment Toxicity Tests with Marine and Estuarine Amphipods", ASTM E 1367–92, dans : *The Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04 (1994), Philadelphia, PA.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), 1994b. "Standard Guide for Conducting Sediment Toxicity Tests with Freshwater Invertebrates", ASTM E 1383–94, dans : *The Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04 (1994), Philadelphia, PA.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), 1994c. "Standard guide for collection, storage, characterization, and manipulation of sediments for toxicological testing, ASTM E 1391–90, dans : *The Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04 (1994), Philadelphia, PA.
- ASTM (American Society for Testing and Materials), 1995. "Standard test methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates", ASTM E 1706-95 dans : *The Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.04, Philadelphia, PA.
- Birge W.J., J. Black, S. Westerman, et P. Francis. 1987. "Toxicity of sediment-associated metals to freshwater organisms: biomonitoring procedures", pp. 199–218, dans : *Fate and Effects of Sediment-bound Chemicals in Aquatic Systems*, D. Dickson, A. Maki, and W. Brungs (réd.), Pergamon Press, New York.
- Box, G.E.P. et D.R. Cox. 1964. "Analysis of transformations", *J. Royal Statistical Society, Series B*, 26:211–252.
- Burgess, R.M., B.A. Rogers, S.A. Rego, J.M. Corbin, et G.E. Morrison. 1994. Sand spiked with copper as a reference toxicant material for sediment toxicity testing: a preliminary evolution. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26:163–168.
- Burton, Jr., G.A. 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 10:1585–1627.
- Cairns, M.A., A.V. Nebeker, J.H. Gakstatter, et W.L. Griffis, 1984. Toxicity of copper-spiked sediments to freshwater invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.*, 3:435–445.

- Carlson, A.R., G.L. Phipps, V.R. Mattson, P.A. Kosian, et A.M. Cotter. 1991. The role acid-volatile sulphide in determining cadmium bioavailability and toxicity in freshwater sediments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10:1309–1319.
- Clark, J.R., J.M. Patrick, Jr., J.C. Moore, et E.M. Lores. 1987. Waterborne and sediment-source toxicities of six organic chemicals to grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and amphioxus (*Branchiostoma caribaeum*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 16:401–407.
- Clements, W.H., Colorado State University, communication personnelle (1995).
- Day, K., Environment Canada, communication personnelle (1993).
- DeWitt, T.H., R.C. Swartz, et J.O. Lamberson. 1989. Measuring the acute toxicity of estuarine sediments, *Environ. Toxicol. Chem.*, 8:1035–1048.
- DeWitt, T.H., R.J. Ozretich, R.C. Swartz, J.O. Lamberson, D.W. Schults, G.R. Ditsworth, J.K.P. Jones, L. Hoselton, et L.M. Smith. 1992. The influence of organic matter quality on the toxicity and partitioning of sediment-associated fluoranthene. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11:197–208.
- Dillon, T.M., D.W. Moore, et A.B. Gibson. 1993. Development of chronic sublethal bioassay for evaluating contaminated sediment with the marine polychaete worm *Nereis (Neanthes) arenaceodentata*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12:589–605.
- Ditsworth, G.R., D.W. Schults, et J.K.P. Jones. 1990. Preparation of benthic substrates for sediment toxicity testing. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9:1523–1529.
- Di Toro, D.M., L.M. Horzempa, M.M. Casey, et W. Richardson. 1982. Reversible and resistant components of PCB-absorption-desorption. Adsorbent concentration effects. *J. Great Lakes Res.*, 8:336–349.
- Di Toro, D.M., J.D. Mahony, D.J. Hansen, K.J. Scott, M.B. Hicks, S.M. Mayr, et M.S. Redmond. 1990. Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulphide. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9:1487–1502.
- Di Toro, D.M., C.J. Zarba, D.J. Hansen, W.J. Berry, R.W. Swartz, C.E. Cowan, S.P. Pavlou, H.E. Allen, N.A. Thomas, et P.R. Paquin. 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environ. Toxicol. Chem.* 10:1541–1583.
- Doe, K. et A. Murdoch, Environment Canada, personal communication (1994).
- Dowdy, S. et S. Weardon. 1983. *Statistics for Research*, pp. 299–301. John Wiley and Sons, New York, NY.
- Dux, J.P. 1986. *Handbook of Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, NY.
- Environment Canada. 1990. *Document d'orientation sur le contrôle de la précision des essais de toxicité au moyen de produits toxiques de référence*. Rapport SPE 1/RM/12, Service de la protection de l'environnement Ottawa (Ontario).
- Environment Canada. 1992. *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens*. Rapport SPE 1/RM/26. Conservation et Protection, Ottawa (Ontario).

- Environment Canada. 1994. *Document d'orientation sur le prélèvement et la préparation de sédiments en vue de leur caractérisation physicochimique et d'essais biologiques*. Rapport SPE 1/RM/29. Conservation et Protection, Ottawa, ON.
- Environnement Canada. 1997a. *Méthode d'essai biologique : essai de croissance et de survie de l'amphipode dulcicole Hyalella azteca dans les sédiments*. Rapport SPE 1/RM/33. Conservation et Protection, Ottawa, ON.
- Environnement Canada. 1997b. *Méthode d'essai biologique : essai de croissance et de survie de larves dulcicoles de moucheron (Chironomus tentans ou Chironomus riparius) dans les sédiments*. Rapport SPE 1/RM/32. Conservation et Protection, Ottawa, ON.
- EVS Consultants. 1991. *Phase V studies of 10-day tests for sediment toxicity using marine or estuarine infaunal amphipods*. EVS Consultants, North Vancouver, BC. N° de projet 3/047-24.2, 37 p. + app.
- Foster, G.D., S.M. Baksi, et J.C. Means. 1987. Bioaccumulation of trace organic contaminants from sediment by Baltic clams (*Macoma balthica*) and soft-shelled clams (*Mya arenaria*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 6:969–976.
- Francis, P.C., W.J. Birge, et J.A. Black. 1984. Effects of cadmium-enriched sediment on fish and amphibian embryo-larval stages. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 8:378-387.
- Fremling, C.R. et W.L. Mauck. 1980. Methods for using nymphs of burrowing mayflies (Ephemeroptera; *Hexagenia*) as toxicity test organisms, pp. 81–97. dans : *Aquatic Invertebrate Bioassays*, A.L. Buikema, Jr. and J. Cairns, Jr., (éd.), ASTM STP 715, American Society for Testing and Materials. Philadelphie, PA.
- Gambrell, R., Louisiana State University, communication personnelle (1993).
- Geisy, J., University of Michigan, communication personnelle (1992).
- Green, A.S., G.T. Chandler, and E.R. Blood. 1993. Aqueous-, porewater-, and sediment-phase cadmium: toxicity relationships for a meiobenthic copepod. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 12:1497–1506.
- Håkanson, L. 1984. Sediment sampling in different aquatic environments: statistical aspects. *Water Resour. Res.*, 20:41–46.
- Hamr, P., R.S. Kirby, P. Gillis, et K.E. Day. 1994. *Development of methodologies for whole-sediment toxicity tests with benthic invertebrates: a) optimum age for initiation and duration of the Hyalella azteca survival and growth test, b) Formulation of artificial sediment(s) for use in reference toxicity tests with benthic invertebrates*. Prepared for Technology Development Directorate, Environment Canada, Ottawa (Ontario), 28 p.
- Hanes, E.C., J.J.H. Ciborowski, et L.D. Corkum. 1991. Standardized rearing materials and procedures for *Hexagenia*. A benthic aquatic bioassay organism. Rapport préparé pour le Comité consultatif de la recherche, ministère de l'Environnement et de l'Énergie de l'Ontario, Toronto (Ontario).
- Henry, M.G., D.N. Chester, et W.L. Mauck. 1986. Role of artificial burrows in *Hexagenia* toxicity tests: recommendations for protocol development. *Environ. Toxicol. Chem.*, 5:553–559.
- Hickey, C. Et P. Roper, NIWA Ecosystems (données inédites) (1995).
- Hubert, J.J., 1987. "PROBIT2: A Microcomputer Program for Probit Analysis", Département

- de la mathématique et de la statistique, Univ. de Guelph, Guelph (Ontario).
- Jenne, E.A., et J.M. Zachara. 1987. Factors influencing the sorption of metals. pp. 83–98, In: *Fate and Effects of Sediment-bound Chemicals in Aquatic Systems*. K.L. Dickson, A.W. Maki, and W.A. Brungs (éd.), Pergamon Press, Elmsford, NY.
- Karickhoff, S.W. 1980. Sorption of hydrophobic pollutants in natural sediments. pp. 193–205, In: *Contaminants and Sediments*. R.A. Baker (ed.). Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI.
- Karickhoff, S.W., et K.R. Morris. 1985. Sorption dynamics of hydrophobic pollutants in sediment suspensions. *Environ. Toxicol. Chem.*, 4:469–479.
- Keilty, T.J., D.S. White, et P.F. Landrum. 1988a. Sublethal responses to endrin in sediment by *Limnofrilius hoffmeisteri* (Tuificidae) and in mixed-culture with *Stylodrilius heringianus* (Lumbriculidae). *Aquat. Toxicol.*, 13:251–270.
- Keilty, T.J., D.S. White, et P.F. Landrum. 1988b. Sublethal responses to endrin in sediment by *Stylodrilius heringianus* (Lumbriculidae) as measured by a <sup>137</sup>Cesium marker layer technique. *Aquat. Toxicol.*, 13:227–250.
- Kemble, N.E., F.J. Dwyer, et C.G. Ingersoll. 1994. Development of a formulated sediment for use in whole-sediment toxicity testing. SETAC Abstract, Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Denver, CO.
- Kersten, M., et U. Förstner. 1987. Cadmium associations in freshwater and marine sediment, pp. 51–88. In: *Cadmium in the Aquatic Environment*, J.O. Nriagu and J.B. Sprague (eds.), John Wiley & sons, New York, NY.
- Kukkonen, J., et P.F. Landrum. 1994. Toxicokinetics and toxicity of sediment-associated pyrene to *Lumbriculus variegatus* (Oligochaeta). *Environ. Toxicol. Chem.*, 13:1457–1468.
- Landrum, P.F. 1989. Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed to sediments for the amphipod, *Pontoporeia hoyi*. *Environ. Sci. Tech.*, 23:588–585.
- Landrum, P.F., NOAA, communication personnelle (1994).
- Landrum, P.F., et R. Poore. 1988. Toxicokinetics of selected xenobiotics in *Hexagenia limbata*. *J. Great Lakes Res.*, 14:427–437.
- Landrum, P.F., et W.R. Faust. 1991. Effect of variation in sediment composition on the uptake rate coefficient for selected PCB and PAH congeners by the amphipod, *Diporeia* sp., pp. 263–279. In: *Aquatic Toxicology and Risk Assessment*. MA. Mayes and M.G. Barron (eds.), ASTM STP 1124, American Association for Testing and Materials. Philadelphie, PA.
- Landrum, P.F., W.R. Faust, et B.J. Eadie. 1989. Bioavailability and toxicity of a mixture of sediment-associated chlorinated hydrocarbons to the amphipod *Pontoporeia hoyi*, pp. 315–329, In: *Aquatic Toxicity and Hazard Assessment: Volume 12*, ASTM STP 1027. U.M. Cowgill and L.R. William (eds.), American Society for Testing and Materials. Philadelphie, PA.
- Landrum P.F., B.J. Eadie, et W.R. Faust. 1991. Toxicokinetics and toxicity of a mixture of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons to the amphipod *Diporeia* sp. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10:35–46.
- Landrum P.F., B.J. Eadie, et W.R. Faust. 1992. Variation in the bioavailability of polycyclic

- aromatic hydrocarbons to the amphipod *Diporeia* spp. with sediment aging. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11:1197–1208.
- Landrum, P.F., W.S. Dupuis, et J. Kukkonen. 1994. Toxicokinetics and toxicity of sediment-associated pyrene and phenanthrene in *Diporeia* spp.: Examination of equilibrium-partitioning theory and residue-based effects for assessing hazard. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13:1769–1780.
- Lydy, M.J., K.A. Bruner, K.A. Fry, et S.W. Fisher. 1990. Effects of sediment and the route of exposure on the toxicity and accumulation of neutral lipophilic and moderately water soluble metabolizable compounds in the midge, *Chironomus riparius*, pp. 140–164. dans : *Aquatic Toxicology and Risk Assessment: Volume 13*, W.G. Landis et W.H. van der Schalie (réd.). ASTM STP 1906, American Society for Testing and Materials. Philadelphie, PA.
- MacPherson, C. EVS Consultants, Ltd., communication personnelle (1992).
- Malueg, K.W., G.S. Schuytema, et D.F. Krawczyk. 1986. Effects of sample storage on a copper-spiked freshwater sediment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 5:245–253.
- McLeese, D.W., C.D. Metcalfe, et D.S. Pezzack. 1980. Uptake of PCBs from sediments by *Nereis virens* and *Crangon septemspinosa*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9:507–518.
- McLusky, D.S., V. Bryant, et R. Campbell. 1986. The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceangr. Mar. Biol. A Rev.*, 24:481–520.
- Murdoch, A., Environnement Canada, communication personnelle (1994).
- Muir, D.C.G., N.P. Grift, B.E. Townsend, D.A. Metner, et W.L. Lockhart. 1982. Comparison of the uptake and bioconcentration of fluoridone and terbutryn by rainbow trout and *Chironomus tentans* in sediment and water systems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 11:595–602.
- Muir, D., Ministère des Pêches et des Océans, communication personnelle (1993).
- Naylor, C., et Q.C.J. Rodrigues. 1994. The use of the OECD earthworm soil (a formulated sediment) in tests with *Chironomus riparius*. SETAC abstract, 15<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for Environmental Toxicology and Chemistry, Denver, CO.
- Nebeker, A.V., S.T. Onjukka, M.A. Cairns, et D.F. Krawczyk. 1986. Survival of *Daphnia magna* and *Hyaella azteca* in cadmium-spiked water. *Environ. Toxicol. Chem.*, 5:933–938.
- Nelson, P.O., A.K. Chung, et M.C. Hudson. 1981. Factors affecting the fate of heavy metals in the activated sludge process. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53:1323–1333.
- Nkedi-Kizza, P., P.S.C. Rao, et A.G. Hornsby. 1985. Influence of organic cosolvents on sorption of hydrophobic organic chemicals by soils. *Environ. Sci. Technol.*, 19:975–979.
- Norberg-King, T. 1988. An interpolation estimate for chronic toxicity: The IC50 approach. Natural Effluent Toxicity Assessment Centre Technical Report 05–88, Sept. 1988, Duluth, MN.
- Oakley, S.M., C.E. Delphey, K.J. Williamson, et P.O. Nelson. 1980. Kinetics of trace metal partitioning in model anoxic marine sediments. *Water Res.*, 14:1067–1072.



- Ozretich, R.J., et W.P. Schroeder. 1986. Determination of selected neutral priority organic pollutants in marine sediment, tissue and reference materials utilizing bond-phase sorbents. *Anal. Chem.*, 58:2041–2048.
- Paine, M.D., et C.A MacPherson. 1991. Phase IV studies of the 10-day tests for sediment toxicity using marine or estuarine infaunal amphipods. Project No. 3/047-33. EVS Consultants, Vancouver, BC, 71 p.
- Pascoe, D., A.F. Brown, B.M.J. Evans, et C. McKavanagh. 1990. Effects and fate of cadmium during toxicity tests with *Chironomus riparius* - the influence of food and artificial sediment. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19:872–877.
- Pesch, C.E., et D. Morgan. 1978. Influence of three sediment types on copper toxicity to the polychaete *Neanthes arenaceodentata*. *Water Res.*, 12:747–751.
- Phipps, G.L., V.R. Mattson, et G.T. Ankley. 1994. The relative sensitivity of three benthic test species to 10 chemicals. *Arch. Environ. Toxicol. Chem.* (in review).
- Podoll, R.T., et W.R. Mabey. 1987. Factors to consider in conducting laboratory sorption/desorption tests, pp. 83–98. dans : *Fate and Effects of Sediment-bound Chemicals in Aquatic Systems*. K.L Dickson, A.W. Maki, et W.A. Brungs (réd.) Pergamon Press, Elmsford, NY.
- Ray, S., D. McLeese, et D. Pezzack. 1980. Accumulation of cadmium by *Nereis virens*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9:1–8.
- Ribeiro, R., R. Margalho, F. Goncalves, et A.M.V.M. Soares. 1994. A novel formulated sediment for toxicity testing with a highly controlled composition sediment. SETAC Abstract, Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Denver, CO.
- Robinson, A.M., J.O. Lamberson, F.A. Cole, et R.C. Swartz. 1988. Effects of culture conditions on the sensitivity of a Phoxocephalid amphipod, *Rhepoxynius abronius*, to cadmium in sediment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 7:953–959.
- Sawyer, L.N., et G.A. Burton, Jr. 1994. Validation of various formulated sediment recipes for use in toxicity assessments. SETAC Abstract, Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Denver, CO.
- Schults, D., USEPA, communication personnelle (1992).
- Schuytema, G.S., P.O. Nelson, K.W. Malueg, A.V. Nebeker, D.F. Krawczyk, A.K. Ratcliff, et J.H. Gakstatter. 1984. Toxicity of cadmium in water and sediment to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 3:293–308.
- Sokal, R.R., et F.J. Rohlf. 1981. *Biometry* 2<sup>nd</sup> edition, W.H. Freeman and Company, New York, NY, 859 p.
- Steel, R.G.D., et J.H. Torrie. 1960. *Principles and Procedures of Statistics*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY. 633 p.
- Stemmer, B.L., G.A. Burton, Jr., et S. Leibfritz-Frederick. 1990. Effect of sediment test variables on selenium toxicity to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9:381–389.
- Stephan, C.E., “Methods for Calculating an LC50”, p. 65–84, dans : *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*, F.L. Mayer et J.L. Hamelink (réd.), ASTM STP 634, American Society for Testing and Materials, Philadelphie, PA (1977).

- Stephenson, G.L., K.E. Day, R. Scroggins, R. Scott Kirby, et P. Hamr. 1994. Current status of Environment Canada's guidance on control of test precision using a spiked sediment toxicity test: what to spike and how?, dans: *Environmental Toxicology and Risk Assessment*: ASTM STP 1262. T.W. La Point et C.G. Ingersoll (réd.), American Society for Testing and Materials, Philadelphie, PA.
- Suedel, B.C. and J.H. Rodgers. 1994. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13:1163–1175.
- Suedel, B.C., J.H. Rodgers, et P.A. Clifford. 1993. Bioavailability of fluoranthene in freshwater sediment toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12:155–165.
- Swartz, R.C., G.R. Ditsworth, D.W. Schults, et J.O. Lamberson. 1985. Sediment toxicity to a marine infaunal amphipod: Cadmium and its interaction with sewage sludge. *Mar. Environ. Res.*, 18:133–153.
- Swartz, R.C., P.F. Kemp, D.W. Schults, et J.O. Lamberson. 1988. Effects of mixtures of sediment contaminants on the marine infaunal amphipod, *Rhepoxynius abronius*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 7:1013–1020.
- Swartz, R.S., D.W. Schults, T.H. DeWitt, G.R. Ditsworth, et J.O. Lamberson. 1990. Toxicity of fluoranthene in sediment to marine amphipods: A test of the equilibrium partitioning approach to sediment quality criteria. *Environ. Tox. Chem.*, 9:1071–1080.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1991. "Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms", 4<sup>e</sup> éd., EPA/600/4-90-027 Cincinnati, OH.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) 1994a. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates, EPA 600/R-94/024, Duluth, MN.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) 1994b. Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. EPA/600/R-94/025. Office of Research and Development. Washington, DC.
- Walsh, G.E., D.E. Weber, L.K. Esry, M.T. Nguyen, J. Noles, et B. Albrecht. 1991. Synthetic substrata for propagation and testing of soil and sediment organisms. *Pedobiologia*, 26:1–10.
- Weber, C.I., W.H. Peltier, T.J. Norberg-King, W.B. Horning II, F.A. Kessler, J.R. Menkedick, T.W. Neiheisel, P.A. Lewis, D.J. Klemm, Q.H. Pickering, E.L. Robinson, J.M. Lazorchak, L.J. Wymer et R.W. Freyberg. 1989. Short-term methods for estimating the chronic methods of effluents and receiving waters to freshwater organisms. 2<sup>e</sup> éd., USEPA. EPA/600/4-89/001.
- Webster, G.R.G., M.R. Servos, G.G. Choudhry, L.P. Sarna, et G.C.G. Muir. 1990. Methods for dissolving hydrophobics in water for studies of their interactions with dissolved organic matter, pp. 191–192, dans : Abstracts. Vol. 27, Advances in Chemistry Series, presented at 193<sup>rd</sup> National Meeting of the American Chemical Society, Division of Environmental Chemistry.
- Word, J.Q., J.A. Ward, L.M. Franklin, V.I. Cullinan, et S.L. Kiesser. 1987. Evaluation of the equilibrium partitioning theory for estimating the toxicity of the nonpolar organic compound DDT to the sediment dwelling amphipod *Rhepoxynius abronius*.

BattelleMarine Research Laboratory Report  
(Task 1, WA56). Sequim, WA. 60 p.

Yee, S., M. Van Rikxoort, et D. McLeay. 1992.  
The effect of holding time on *Eohaustorius*  
*washingtonianus* during ten-day sediment  
bioassays and reference toxicant tests. Report

prepared for Environment Canada and the  
Inter-Governmental Aquatic Toxicity Group,  
North Vancouver, BC, 53 p.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2<sup>e</sup> éd.,  
Prentice-Hall, Inc., N.J. 718 p.

## **Personnes ayant fourni des renseignements dans le cadre des essais de produit toxique de référence sur sédiment de contrôle dopé**

Richard Swartz  
USEPA  
Hatfield Marine Science Center  
Newport (OR) 97365

Kristin Day  
Institut national de recherche sur les eaux  
Environnement Canada  
867 Lakeshore Blvd., P.O. Box 5050  
Burlington (Ontario) L7R 4A6

John Geisy  
Michigan State University  
Department of Fisheries and Wildlife  
#13 Natural Resources Building  
East Lansing (MI) 48824

Don Schults  
USEPA  
Hatfield Marine Science Center  
Newport (OR) 97365

Mr. Ken Doe  
Toxicologie aquatique  
Division des services de laboratoire PE  
Environnement Canada  
Dartmouth (N.-É.)

Robert Gambrell  
Louisiana State University  
Baton Rouge (LA) 70810  
(504) 388-6426

Derek Muir  
Institut des eaux douces  
Ministère des Pêches et des Océans  
501 University Crescent  
Winnipeg (Man.) R3T 2N6

Cathy MacPherson  
EVS Consultants  
195 Pemberton Ave.  
North Vancouver (C.-B.) V7P 2R4

Alena Murdoch  
Direction de la recherche sur les lacs  
Institut national de recherche sur les eaux  
867 Lakeshore Road  
Burlington (Ont.) L7R 4A6

Jill Jones  
ASCI Corporation  
2111 S.E. Marine Science Dr.  
Newport (OR)

Chris Ingersoll  
National Biological Survey  
4200 New Haven Road  
Columbia (MO) 65201

Gary Ankley  
Environmental Research Lab  
6201 Congdon Boulevard  
Duluth (MN) 55804-1136

Peter Landrum  
Great lakes Environmental Research Lab  
2205 Commonwealth Boulevard  
Ann Arbor (MI) 48105-1593

C. Hickey  
NIWA Ecosystems  
P.O. Box 11-115  
Hamilton (New Zealand)

## Annexe B

## Séries logarithmiques de concentrations convenant à des essais de toxicité (adaptation d'un document d'Environnement Canada, 1992)

Colonne (nombre de concentrations entre 10.0 et 1.00, ou entre 1.0 et 0.10)\*

1	2	3	4	5	6	7
10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
3.2	4.6	5.6	6.3	6.8	7.2	7.5
1.00	2.2	3.2	4.0	4.6	5.2	5.6
0.32	1.00	1.8	2.5	3.2	3.7	4.2
0.10	0.46	1.00	1.6	3.3	2.7	3.2
	0.22	0.56	1.00	1.5	1.9	2.4
	0.10	0.32	0.63	1.00	1.4	1.8
		0.18	0.40	0.68	1.00	1.3
		0.10	0.25	0.46	0.72	1.00
			0.16	0.32	0.52	0.75
			0.10	0.22	0.37	0.56
				0.15	0.27	0.42
				0.10	0.19	0.32
					0.14	0.24
					0.10	0.18
						0.13
						0.10

\* Un série de cinq concentrations successives (ou plus) peut être choisie dans une colonne. Les points médians entre les concentrations de la colonne (x) se trouvent à la colonne (2x + 1). Les valeurs indiquées peuvent représenter des concentrations exprimées en fonction de la masse (p. ex., mg/kg) ou du volume (p. ex., mg/L). Au besoin, les valeurs peuvent être multipliées ou divisées par n'importe quelle puissance de 10. La colonne 1 pourrait être utilisée s'il y avait une incertitude appréciable quant au degré de toxicité. On ne devrait pas avoir recours à des concentrations plus espacées que celles indiquées à la colonne 1 ci-dessus. Les colonnes 4 à 7 pourraient être utiles dans le cas des produits toxiques qui ont un seul d'effet abrupt.

## Renseignements types fournis sur une fiche signalétique

### Identification :

Numéro d'identification 435002  
 Langue Français  
 Nom(s) du produit Chlorure de cadmium  
 Identificateur FS 2350-1; NIP  
 du produit 2570;  
 NCP 2350-1  
 Date 1991-05-22

### Information sur le fabricant :

Adresse  
 Numéros de téléphone d'urgence  
 Renonciations

### Identification du produit :

Nom/synonymes Chlorure de cadmium  
 Famille chimique Sel inorganique  
 Formule chimique  $\text{CdCl}_2$   
 Usage Solvant de laboratoire

### Ingrédients dangereux :

Chlorure de cadmium à 100 %  
 Valeur limite 0.05 mg/m<sup>3</sup> (sous  
 d'explosion le forme de Cd)

### Données physiques:

État physique solide  
 Odeur/aspect blanc, inodore, cristaux  
 Tension de vapeur 10 mm Hg à 656° C  
 Point d'ébullition 960° C  
 Point de fusion 568° C  
 pH 4.0 à 6.5 (solution de 5  
 %)  
 Densité 4.0

### Transport :

NIP 2570  
 TMD Classe 6.1  
 Group d'emb. II

### Données sur la réactivité :

Stabilité chimique normalement stable  
 Incompatibilité potassium, oxydants forts,  
 acides  
 Produits de décomp. oxydes de cadmium,  
 dangereux composés du chlore

### Incendie/explosion :

Inflammabilité  
 Moyens d'extinction  
 Point d'éclair  
 Température d'auto-inflammation  
 Produits dangereux de combustion  
 Sensibilité à l'impact mécanique  
 Sensibilité à une décharge statique

### Propriétés toxicologiques :

DL50 (orale chez le rat)  
 Effets de l'exposition aiguë au produit  
 Inhalation  
 Contact dermique  
 Contact oculaire  
 Ingestion  
 Effets de l'exposition chronique au produit  
 Cancérogénécité  
 Tératogénécité  
 Effets sur la reproduction  
 Mutagénécité  
 Produits synergiques

### Mesures préventives :

Installation technique  
 Protection respiratoire  
 Protection des yeux  
 Protection de la peau  
 Autre protection individuelle  
 Procédures en cas de fuite ou de déversement  
 Élimination des déchets  
 Méthodes et équipement pour la manutention  
 Exigences en matière de stockage

### Mesures de premiers soins:

Yeux  
 Peau  
 Inhalation  
 Ingestion

## Sédiments formulés : résumé des recherches en cours

Il existe un certain nombre de façons de formuler les sédiments dulcicoles. Ces méthodes comportent normalement des constituants semblables, seule la composition relative des constituants ou les techniques de combinaison des constituants étant différentes (tableau 3). La source des constituants est généralement comparable.

**Tableau 3 Composition relative des constituants (ASTM, 1994; USEPA, 1994)**

Référence	Sources des constituants	Formulation	Méthode
Walsh <i>et al.</i> 1991	Sable blanc Mystic No. 85, 45, 18 de New England Silica Argile/limon de Engelhard Corp.	<b>% de la masse sèche</b>	
		Sable grossier (500 to 1500 µm)	0,6
		Sable moyen (250 to 499 µm)	8,7
		Sable fin (63 to 249 µm)	69,2
		Argile	10,2
		Argile	6,4
		Matière organique (tourbe)	4,9
Clements, W.H. 1995	Sable blanc Mystic No. 45 Argile/limon ASP® 400 de Engelhard Corp.	<b>masse sèche (g)</b>	
		Sable	1242
		Argile/limon	219
		Dolomite	7,5
		Tourbe	31,5
		Acide humique	0,15
			Rincer la tourbe et la tremper pendant 5 jours dans de l'eau désionisée avec renouvellement quotidien de l'eau. Enlever la tourbe de l'eau, puis la sécher à l'air, la broyer et la tamiser sur des mailles de 1,18 mm (éliminer la matière retenue sur le tamis), 1,00 mm, 0,85mm, 0,60mm et 0,425mm. Combiner la matière ci-dessus de façon que la taille moyenne des particules de la tourbe soit de 840µm. Laver le sable et le sécher à 105° C. Combiner les constiuants à l'état sec et les mélanger dans un dispositif de rotation pendant 1 h et stocker (à l'état sec) jusqu'à l'emploi.
Hanes <i>et al.</i> 1991	Sable silicieux 180–500 µm Argile de sculpture Lewiscraft® Terreau No Name Potting Soil®	<b>% de la masse sèche</b>	
		Mélange de sable	42
		Argile	42
		Sol	16
			Tamiser le sable et retenir deux tailles de particules, soit 90–180 et 180–250 µm, et les combiner dans un rapport de 2/1. Sécher le terreau à l'air et tamiser sur des mailles de 1 mm. Déterminer la teneur (%) en eau de l'argile et du sol après un séchage de 24 h à 60–100° C. Au moment du mélange, corriger la teneur en eau (%) des constituants d'après la masse sèche. Le mélange est étuvé 20 min puis stocké jusqu'à l'emploi.

**Tableau 3 Composition relative des constituants (suite)(ASTM, 1994; USEPA, 1994)**

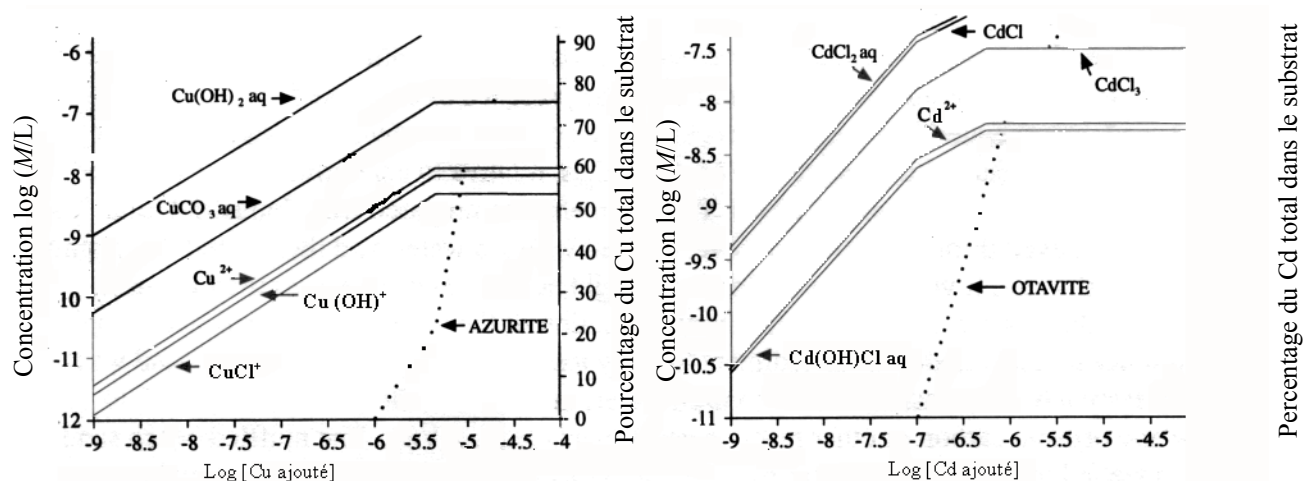
<b>Référence</b>	<b>Sources des constituants</b>	<b>Formulation</b>	<b>Méthode</b>
Suedel et Rodgers, 1994	Sable blanc Mystic No. 18, 90 de New England Silica Inc. Silt-ASP® 400 Clay-ASP® 600 and 900 Argile sous forme montmorillonite/kaolin de Engelhard Corp. Dolomite de Ward's Natural Science Establishment Inc. Humus de Sims Bark Co. Inc.	Formulé de façon à correspondre à des sédiments naturels, donc de composition variable :  <b>% de la masse sèche</b> Sable 7,1 à 92,0 Limon 8,0 à 92,9 Argile 0 à 3,5 Matière organique 0,17 à 8,4	Tamiser le sable à sec pour obtenir trois différentes classes granulométriques, soit 500–2000, 250–500, et 50–200 µm. Réduire en cendre le limon, l'argile et la dolomite à 550° C pendant 1 h pour enlever la matière organique. Sécher l'humus à 70° C et le broyer à 2,0 mm. Ajouter la dolomite dans une proportion de 1 % du besoin en limon. Mélanger les constituants à sec et les hydrater avec de l'eau de dilution avant l'emploi. Une période de conditionnement de 7 jours est requise.
Hamr, P. <i>et al.</i> 1994	Sable silicieux fin de Amercian Colloid Company Allen R Clay de Stochem Inc. Dolomite de Redland Quarries Cerophyl de Sigma Chemical	<b>% de la masse sèche</b> Sable 25 à 75 Limon 33 Argile 25 à 75 Cerophyl 1 to 6 Dolomite 0,5	Laver le sable, le sécher puis le mélanger avec le limon et l'argile secs. Hydrater le mélange avec de l'eau de dilution (600-800 g phase solide avec 600 mL d'eau) et brasser la boue pendant 24 h. Laisser la boue se décanter pendant 3 jours (conditionnement) avec aération délicate de l'eau sus-jacente. Ajouter la dolomite en solution et la Cerophyl <sup>MC</sup> conditionnée, puis mélanger pendant 1 h. Laisser la boue se décanter durant la nuit. L'eau sous-jacente excédentaire est décantée puis éliminée avant que le sédiment enrichi ne soit utilisé dans un essai.
Naylor et Rodrigues, 1994		<b>% de la masse sèche</b> Sable 69 Kaolin 20 Tourbe 10 CaCO <sub>3</sub> 1	Laver le sable à l'acide et le tamiser pour obtenir des particules de 40-100 µm. Broyer la tourbe et la tamiser sur des mailles de 2 mm (ne pas sécher complètement, car il y aura flottation lorsque le mélange du substrat sera hydraté). Les constituants sont mélangés d'après la masse sèche [c.-à-d., rajusté selon la teneur en eau (%)]. Mélanger pendant 2 h dans un agitateur de sol.



Les travaux de recherche sur la mise au point de sédiments marins artificiels ou formulés sont moins nombreux que ceux visant les sédiments dulcicoles (Walsh et coll., 1991). Il semble y avoir une tendance à utiliser du sable prélevé sur des plages comme sédiment de base pour les évaluations de la toxicité. Le sable est manipulé et préparé en vue des essais soit par lavage, tamisage par voie humide et séchage au four, soit par traitement dans un four à moufle porté à une température élevée pendant une période donnée. Dans des essais comparatifs en phase liquide plutôt que sur substrat menés avec *Eohaustorius washingtonianus* et avec du  $\text{CdCl}_2$  comme produit toxique de référence, la présence de substrat dopé avec du Cd (sable à grains fins, remis en suspension dans une plage de concentrations de  $\text{CdCl}_2$ ) a réduit la variabilité des données sur la mortalité et a donné des CL50 uniformément plus élevées comparativement à des essais simultanés exécutés en l'absence de substrat (Yee et coll., 1992). Le sédiment a été préparé à l'aide de sable industriel. Le sable a été tamisé par voie humide sur des mailles de 600  $\mu\text{m}$ , lavé avec de l'eau du robinet et rincé soigneusement avec de l'eau désionisée. Il a ensuite été séché au four durant la nuit à 105° C avant de l'utiliser dans un essai. Des méthodes semblables ont été utilisées dans une évaluation préliminaire de l'emploi de sable dopé avec du Cu comme produit toxique de référence dans des essais de toxicité sur sédiment (Burgess *et al.*, 1994). Le sable a été prélevé sur une plage, lavé avec de l'eau désionisée et traité dans un four à moufle à 450° C pendant 6 h en vue de l'enlèvement de tout carbone organique ou autres constituants réactifs comme les SVA. Il a ensuite été mouillé, par brassage manuel, avec de l'eau désionisée et la boue eau-sable a été amendée au moyen de  $\text{CuCl}_2$  cristallin de façon à produire 1,5 kg d'un mélange sable-Cu ayant une concentration de 614 mg de Cu/kg de sable. Ce substrat dopé a été mis en équilibre pendant cinq mois avant d'être utilisé dans des essais de toxicité. Hickey et Roper (1995) ont observé une différence notable du taux de dérive et du mouvement des invertébrés aquatiques exposés à du sable frais traité et non traité dans un four à moufle. Cette différence a été atténuée par un préconditionnement de 5 jours au moyen d'eau sus-jacente. Cette période de préconditionnement et celle de mise en équilibre en vue du dopage seraient simultanées.

## Devenir du cuivre et du cadmium ajoutés à l'eau de mer naturelle

Les graphiques suivants décrivent sommairement les changements que subissent les concentrations de différentes espèces de Cu et de Cd dissous après leur addition à l'eau de mer (A. Murdoch, 1994). Les concentrations de Cu et de Cd dans l'eau de mer naturelle (en supposant une salinité de 35 ‰ et une force ionique de 0,714) sont portées sur l'axe des ordonnées, et les concentrations croissantes du Cu ou du Cd ajouté, sur l'axe des abscisses. Les concentrations sont indiquées en M/L. La ligne pointillée indique le pourcentage de Cu [sous forme d'azurite,  $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2$ ] ou de Cd (sous forme d'otavite,  $\text{CdCO}_3$ ) précipité après l'addition de Cu et de Cd à l'eau de mer. Les graphiques montrent que l'azurite commence à précipiter après l'addition de 0,63 mg Cu/L environ, et que 98 % du Cu précipite sous forme d'azurite après l'addition de 6,3 mg de Cu/L environ. Pour ce qui est du Cd, l'otavite commence à précipiter après l'addition de 0,01 mg de Cd/L, et près de 80 % du Cd précipite sous forme d'otavite après l'addition de 0,11 mg Cd/L.



Solubilité du cuivre et du cadmium dans l'eau de mer à 25° C à un pH de 8,21