



Environnement
Canada

Service de la
protection de
l'environnement

Environment
Canada

Environmental
Protection
Service

Méthode normalisée de contrôle de la toxicité aiguë des effluents

Canada

Règlements, codes et méthodes d'analyse
Rapport EPS 1-WP-80-1

Direction générale de lutte contre la pollution des eaux
Mai 1982

SÉRIE DE RAPPORTS DU SERVICE DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT

Les rapports relatifs aux règlements, codes et méthodes d'analyse traitent de la législation courante et des démarches administratives patronnées par le Service de la protection de l'environnement.

Les autres catégories de la série de rapports du Service de la protection de l'environnement comprennent les groupes suivantes: politique et planification, analyse économique et technique, développement technologique, surveillance, guides de formation, rapports et exposés à l'enquête publique, et impacts environnementaux.

Les demandes relatives aux rapports du Service de la protection de l'environnement doivent être adressées au Service de la protection de l'environnement, Ministère l'Environnement, Ottawa, Ontario, Canada, K1A 1C8.

MÉTHODE NORMALISÉE DE CONTRÔLE DE LA TOXICITÉ AIGUË DES EFFLUENTS

**Direction générale de la pollution de l'eau
Service de la protection de l'environnement
Environnement Canada**

Rapport n° EPS-1-WP-80-1

Novembre 1980

nouvelle édition 14-5-82

© Minister of Supply and Services Canada 1980

Cat. No. En 43-1/80-1

ISBN 0-662-51070-4

TABLE DES MATIÈRES

	Page
1 INTRODUCTION	1
2 MODE OPÉRATOIRE	2
2.1 Conditions expérimentales	2
2.2 Interprétation des résultats	3
3 NOTES EXPLICATIVES	4
RÉFÉRENCES	8
REMERCIEMENTS	9
ANNEXE - LABORATOIRES DU SPE	11

1 INTRODUCTION

La présente méthode constitue une simplification du mode opératoire annexé aux règlements et aux lignes directrices du gouvernement fédéral.

Même si elle n'a pas été conçue pour servir à la recherche scientifique, elle est l'aboutissement d'un certain nombre d'années d'utilisation et de la consultation approfondie des publications et des professionnels. Sa validité ayant été démontrée, elle peut s'adapter au contrôle en série dans une foule de conditions. D'autres méthodes pourront lui succéder à mesure de l'évolution des méthodes de dosage biologique et des techniques d'épuration des effluents.

L'utilité de la méthode est d'uniformiser aussi équitablement que possible l'analyse des divers effluents visés par les règlements et lignes directrices du gouvernement fédéral. Pour obtenir d'autres renseignements sur les techniques et l'appareillage, on pourra s'adresser aux laboratoires du SPE énumérés en annexe.

2 MODE OPÉRATOIRE

2.1 Conditions expérimentales

- 1) Sous réserve de l'article 12, les essais sont effectués avec la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri Richardson).
- 2) Le poisson doit être acclimaté et provenir d'un lot sain.
- 3) Chaque poisson doit peser entre 0,5 g et 10 g et, dans un même bassin, la longueur du plus gros ne doit pas être plus du double de celle du plus petit.
- 4) Au moins cinq poissons doivent être exposés à l'échantillon d'effluent et un nombre égal au milieu témoin, pendant une période identique de 96 heures. Toutefois l'épreuve peut prendre fin à la mort de plus de la moitié des poissons exposés à l'effluent.
- 5) Le test est invalide si moins de 90 p. 100 des témoins survivent ou si un seul poisson meurt, lorsque l'expérience ne compte que cinq témoins.
- 6) Compter au moins un demi-litre d'eau par gramme de poisson et par 24 heures, pour le bain d'essais ou de contrôle.
- 7) La profondeur minimale de l'eau dans les bains d'essais est de 15 cm.
- 8) Si la teneur en oxygène dissous de l'échantillon destiné à l'essai biologique est inférieure à 7 mg/L, il faut aérer l'échantillon préalablement à l'épreuve, pendant 2 h au plus, au rythme de 5 cm³ à 7,5 cm³/L•min.
- 9) Pendant l'épreuve, l'échantillon et le milieu témoin doivent être aérés au taux de 5 cm³ à 7,5 cm³/L•min.
- 10) L'épreuve doit se faire à 15 ± 1°C (14°C à 16°C).
- 11) Le nombre de poissons morts sera calculé au moins une fois par jour jusqu'à la fin de la période d'essai de 96 h ou dès que l'essai aura pris fin. Les poissons morts seront retirés des bains au moins une fois par jour.
- 12) Pour les effluents d'eau douce ou de salinité ne dépassant pas 1 p. 100, qu'ils soient rejetés en eau douce ou en eau de mer, les essais sont effectués avec la truite arc-en-ciel acclimatée à l'eau douce. Pour les effluents de salinité supérieure à 1 p. 100 qui sont rejetés en eau de mer, on utilisera un poisson approuvé par le Ministre de l'environnement et acclimaté à l'eau de mer de même salinité que l'effluent. Pour les effluents salés rejetés en eau douce, on utilisera de la truite arc-en-ciel acclimatée à l'eau douce.

- 13) S'il faut transporter ou entreposer l'échantillon d'effluent, utiliser des contenants hermétiques non toxiques, vides d'air. Ne pas aérer l'échantillon pendant l'entreposage et veiller à ne pas le garder plus de cinq jours.

2.2 Interprétation des résultats

On considère que l'effluent ne présente pas de toxicité létale aigue pour le poisson si plus de 50 p. 100 des poissons sont encore en vie après 96 h d'essais dans les conditions énoncées. Si seulement 50 p. 100 ou moins des poissons y ont survécu, on considère alors que l'effluent a une toxicité létale aigue pour le poisson.

3 NOTES EXPLICATIVES

Les présentes notes explicatives se rapportent à la technique décrite dans la Méthode normalisée du SPE, tout en laissant place au bon sens lors de la conduite des épreuves. Sauf en cas d'indication contraire, le mode opératoire et les conditions expérimentales sont repris de la 13^e édition de Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water (1971). Voici les éléments essentiels de la méthode de contrôle de la toxicité aigue et pour laquelle on utilise des truites arc-en-ciel.

1) Échantillon destiné aux essais biologiques

Aux termes de ce mode opératoire, l'échantillon d'effluent ne doit pas être dilué avant les essais. L'échantillon destiné aux essais biologiques consiste donc en une portion quelconque de l'effluent recueilli. Cependant, certains règlements permettant une dilution, on devrait au préalable consulter ces règlements particuliers.

2) Obtention des poissons

Les poissons doivent provenir d'une alevinière reconnue par le ministère fédéral de l'Environnement. Les techniques de récolte et de culture des organismes vivant en eau salée sont diverses: on peut consulter le Ministère à ce sujet.

3) Acclimatation des poissons aux conditions du laboratoire

Elle doit se faire sur au moins trois semaines. Elle sert à déterminer si les poissons sont en bonne santé et à leur permettre de s'habituer à leur nouvel habitat. Il n'est pas difficile de prendre soin des poissons, mais il faut en avoir l'expérience. Aux paragraphes suivants, on décrit les conditions qu'on sait importantes.

4) Qualité de l'eau

La dureté de l'eau, son pH, son alcalinité, sa teneur en métaux lourds et en chlore, sa turbidité influent beaucoup sur la santé et la survie du poisson, et, si nécessaire, ces paramètres doivent être contrôlés. Le chlore notamment est mortel à la concentration de 10 mg/L, et parfois au-dessous. Il faut donc déchlorer l'eau du robinet préalablement à la tenue des épreuves; à cette fin, on peut la filtrer sur du charbon actif (charbon d'os); même après ce traitement, il peut malgré tout rester du chlore et des chloramines notamment si la chloration a été énergique. En maints endroits, ces conditions se présentent à la suite de fortes pluies ou après l'inversion printanière ou automnale des lacs. On fait alors

suivre la filtration sur du charbon actif par l'irradiation aux ultra-violet (Armstrong et Scott, 1974), qui a en outre l'avantage d'être bactéricide.

5) Bassins d'acclimatation

Les bassins et leurs accessoires devraient être construits de matériaux non toxiques tels que le verre, la porcelaine, la fibre de verre, l'acier inoxydable, le polythène, l'acrylique, le polypropylène ou le polyester armé de fibre de verre. Les bassins d'acclimatation devraient être éloignés de toute cause physique de dérangement, et de préférence ne pas être placés dans le local où se trouvent les baignoires d'essais. Durant l'acclimatation, l'eau doit constamment être renouvelée dans les bassins, au moins à raison de 1,4 L/g de poisson et par jour. Pour éviter l'encombrement, il devrait y avoir au moins un litre d'eau pour 10 g de poisson (Sprague, 1973).

6) Photopériode

Elle devrait être invariablement de 14 h sous lumière fluorescente, et l'éclairage à la surface de l'eau devrait être de 20 à 30 lux. Son début et sa fin devraient idéalement s'étaler sur 15 minutes, pour éviter de surprendre et de traumatiser les poissons.

7) Aération des bassins

Pour maintenir la teneur en oxygène dissous au-dessus de 7 mg/L durant l'acclimatation, aérer l'eau, si nécessaire en évitant de la sursaturer. On utilise normalement de l'air comprimé filtré, exempt d'huiles. On peut utiliser de l'oxygène, mais il faut alors faire très attention de ne pas en sursaturer l'eau.

8) Nettoyage des bassins

Les bassins doivent être toujours propres. Il existe des modèles partiellement auto-nettoyants, mais l'aspiration périodique des sédiments reste ordinairement nécessaire. Par mesure de prophylaxie les bassins devraient être désinfectés au moyen d'un produit iodé, avant d'y introduire de nouveaux lots de poisson.

9) Température de l'eau

Comme la température de l'eau où séjourne le poisson durant son transport de l'alevine au laboratoire peut se situer hors des limites acceptables pour les épreuves ($15 \pm 1^\circ\text{C}$), il peut falloir l'y ramener graduellement. Ceci doit se faire à un rythme ne dépassant pas $5^\circ\text{C}/\text{j}$. Une fois la température d'acclimatation atteinte, elle ne devrait pas varier durant les 21 jours précédant les essais de dosage biologique.

10) Alimentation des poissons

Elle peut se faire deux fois par jour. Les très petits poissons (jusqu'à 5 cm à la fourche) peuvent devoir être nourris plus souvent et en petites quantités. La nourriture devrait contenir de 30 à 40 p. 100 de protéines et des substances végétales. On peut s'en procurer dans le commerce. Chaque repas doit pouvoir être consommé en 10 minutes environ et la ration quotidienne devrait correspondre à 3 à 5 p. 100 du poids frais du poisson.

11) Détection des maladies et traitement

L'inspection quotidienne des poissons est essentielle à la détection des maladies; les états morbides devraient être reconnus, ce qui nécessite une certaine expérience. Les symptômes de maladie sont la perte d'appétit, la répartition inhabituelle des poissons dans le bassin, une variation de la couleur ou d'autres caractéristiques visibles et un changement du comportement natatoire. Pour diagnostiquer et traiter les maladies, The Handbook of Trout and Salmon Diseases (Roberts et Shephard, 1974) constitue un bon guide de base.

12) Genre d'essai

Les essais peuvent s'effectuer soit en conditions dynamiques sans recirculation de l'eau et en conditions statiques avec ou sans renouvellement de l'eau.

13) Transport, stockage et manutention de l'effluent

Pour transporter et garder l'effluent, on utilise des contenants construits avec des matériaux non toxiques, étanches et vides d'air. Lorsque possible, réfrigérer l'échantillon aux alentours de 4°C. L'échantillon d'effluent ne doit être aéré qu'immédiatement avant le début des essais. L'essai de dosage biologique doit commencer le plus tôt possible après le prélèvement de l'échantillon d'effluent, au plus tard cinq jours après.

14) Bassins

Ils devraient être construits en verre ou garnis d'une doublure intérieure de polythène préalablement rincée avec de l'eau de dilution et qui ne devrait servir qu'une fois.

15) Eau d'approvisionnement - définition et provenance

Elle sert:

- a. à acclimater le poisson;
- b. pour le bain de contrôle;
- c. à diluer l'effluent, si cela est nécessaire.

L'eau qui servira à ces trois fins doit avoir la même provenance et avoir une qualité constante. Tout en respectant les critères de l'article 4 - qualité de l'eau - l'eau d'approvisionnement peut provenir du robinet, d'une source, d'un lac, d'un puits ou de la mer.

16) Épreuve témoin

Elle doit se réaliser en même temps que le dosage biologique et dans les mêmes conditions. L'essai biologique est invalide si moins de 90 p.100 des témoins survivent ou si un seul meurt lorsqu'on a utilisé moins de 10 poissons.

17) Début de l'épreuve

Avant de commencer le dosage biologique, laver et rincer les bassins et leurs conduites avec de l'eau d'approvisionnement. On vérifie la température de l'eau et sa teneur en oxygène. On admet les poissons dans les baignoires au hasard, après quoi, l'épreuve commence. L'aération préalable doit être réduite au minimum pour éviter l'entraînement des matières volatiles.

18) Sélection au hasard

Lors du transfert des poissons des bassins d'acclimatation aux baignoires d'essais et de contrôle, leur sélection devrait se faire au hasard (par exemple, à l'aide de dés, de cartes à jouer ou de tables de hasard).

19) Observation de la mortalité

Les poissons morts doivent être comptés au moins une fois par jour. On prend note du nombre de poissons morts, puis on les retire des baignoires. Pour un meilleur contrôle, la mortalité peut être observée environ 1/4 d'heure puis 1/2, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 et 96 heures après le début de l'épreuve. Un poisson est considéré comme mort si après un faible stimulus mécanique, il ne bouge ni ne respire.

20) Autres observations

Il faut contrôler au moins quotidiennement le débit d'aération, le débit de l'eau, la température, le pH et la teneur en oxygène dissous des baignoires d'essais et de contrôle.

RÉFÉRENCES

Armstrong, F.A.J. et D.P. Scott, 1974, Photochemical dechlorination of water supply for fish tanks with commercial water sterilizers. J. Fish. Res. Board. Can. 31:1881-1885.

Roberts, R.T. et C.J. Shephard, 1974. Handbook of trout and salmon diseases. Fishing News (Books) Ltd., Surrey, England. 118 pp.

Sprague, J.B., 1973. The ABC's of pollutant bioassay using fish. Pages 6-30 In: Biological methods for the measurement of water quality. ASTM STP 528, American Society for Testing Materials, Philadelphia, Pa.

Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 13th edition (1971) published jointly by the American Public Health Association, American Water Works Association and the Water Pollution Control Federation.

REMERCIEMENTS

Le présent document a été rédigé par le Sous-comité technique du Comité de coordination de la toxicité du SPE. Nous remercions grandement tous ceux qui ont contribué à sa préparation et à sa révision.

1

2

3

4

ANNEXE**Bureaux et laboratoires du SPE**

Région de l'Atlantique	Service de la protection de l'environnement 5th Floor, Queens Square 45 Alderney Drive Dartmouth, Nova Scotia B2Y 2N6	(902)426-3287
Région du Québec	Service de la protection de l'environnement 1550 Boulevard de Maisonneuve 4 ième étage Montréal, Québec H3G 1N2	(514)283-2335
	Service de la protection de l'environnement Laboratoire 1001 Pierre-Dupuy Longueuil, Québec J4K 1A1	(514)651-6860
Région de l'Ontario	Service de la protection de l'environnement 25 St. Clair Avenue East Toronto, Ontario M4T 1M2	(416)966-5840
Région de l'Ouest et du Nord	Service de la protection de l'environnement 8th Floor 9942-108 Street Edmonton, Alberta T5K 2J5	(403)420-2573
	Aquatic Toxicology Laboratory 14317-128 Avenue Edmonton, Alberta T5L 3H3	(403)420-2610
Région du Pacifique	Service de la protection de l'environnement Kapilano 100 Park Royal South West Vancouver, B.C. V7T 1A2	(604)666-6711
	Aquatic Toxicity Laboratory 1801 Welch Street North Vancouver, B.C. V7P 1B7	(604)980-6917

