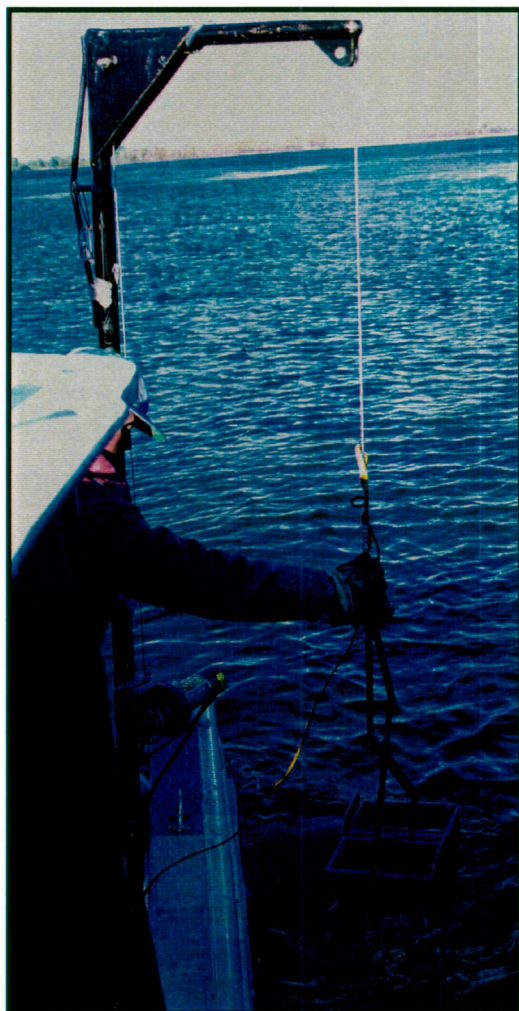




DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UNE BATTERIE MICRO-BIOANALYTIQUE MULTITROPHIQUE POUR SÉDIMENTS DULCICOLES

SOMMAIRE EXÉCUTIF

PROJET DE RECHERCHE RÉALISÉ
CONJOINTEMENT AVEC LA SECTION
ÉCOTOXICOLOGIE ET CHIMIE
ENVIRONNEMENTALE DU CENTRE SAINT-LAURENT

Préparé pour:

ENVIRONNEMENT CANADA
DIRECTION DE LA PROTECTION DE
L'ENVIRONNEMENT
SECTION ÉCO-INNOVATION TECHNOLOGIQUE
MONTRÉAL, QUÉBEC

Mars 1998



CSL-6446

SC041601 C67d Sommaire

**ENVIRONNEMENT CANADA
DIRECTION DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT
SECTION ÉCO-INNOVATION TECHNOLOGIQUE
MONTRÉAL, QUÉBEC**

**CENTRE DE DOCUMENTATION CSL
105, McGill, 2^{ème} étage
Montréal (Québec) H2Y 2E7
Tél.: (514) 283-2762
Fax: (514) 283-7166**

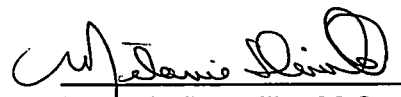
19-05-98

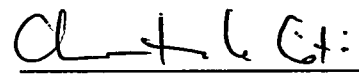
**DÉVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UNE
BATTERIE MICRO-BIOANALYTIQUE MULTITROPHIQUE
POUR SÉDIMENTS DULCICOLES**

SOMMAIRE EXÉCUTIF

**PROJET DE RECHERCHE RÉALISÉ CONJOINTEMENT AVEC LA
SECTION ÉCOTOXICOLOGIE ET CHIMIE ENVIRONNEMENTALE DU
CENTRE SAINT-LAURENT**

BEAK International incorporée


Mélanie Douville, M.Sc.
Assistante de projet


Chantale Côté, M.Sc.A.
Directrice de projet

Préface

Le présent rapport a été examiné par la section Écotoxicologie et chimie environnementale du Centre Saint-Laurent et la section Éco-Innovation technologique d'Environnement Canada, et sa publication est approuvée. Cette approbation ne signifie pas nécessairement que le contenu reflète les opinions et politiques d'Environnement Canada.

Sommaire exécutif

Afin d'évaluer la toxicité des sédiments et d'aider à la prise de décisions lors de projets de caractérisation, de dragage de sédiments contaminés ou de restauration de sites pollués, un projet visant le développement et la validation d'une batterie micro-bioanalytique multitrophique pour sédiments dulcicoles a été entrepris par BEAK International incorporée conjointement avec la section Écotoxicologie et chimie environnementale du Centre Saint-Laurent, la section Éco-Innovation technologique d'Environnement Canada et Environmental Biodetection Products inc. (EBPI).

Les bioessais les plus couramment utilisés dans l'évaluation de sédiments contaminés sont ceux sur sédiments entiers utilisant des invertébrés aquatiques (amphipodes, larves d'insectes, oligochètes, etc.). La majorité de ces essais conventionnels requièrent le maintien en laboratoire de cultures des organismes, demandent plusieurs manipulations et la durée d'exposition est souvent de plusieurs jours.

L'utilisation de microbioessais faciles d'application, peu coûteux et rapides est par ailleurs de plus en plus répandue. Divers organismes aquatiques, représentant différents niveaux trophiques, sont utilisés dans ces essais de toxicité. Le développement et l'application de certains de ces microbioessais est souvent récent et, par conséquent, la démonstration de leur utilité, de leur sensibilité et leur validation reste à être confirmée.

Les objectifs de la présente étude étaient :

- de déterminer quels microbioessais pouvaient le mieux prédire la toxicité telle que mesurée avec les bioessais conventionnels avec des invertébrés aquatiques;
- d'évaluer l'utilité de l'eau interstitielle et des extraits organiques comme matrices de mesure de la toxicité des sédiments entiers;
- d'évaluer la sensibilité des microbioessais aux substances chimiques en comparaison aux substances d'origine dite naturelle (e.g. azote ammoniacal et sulfures volatils);
- d'établir une sélection des bioessais les plus prometteurs, en tenant compte de critères quantitatifs et qualitatifs;
- de proposer une batterie de bioessais analytiques de différents niveaux trophiques, laquelle rencontrerait les demandes spécifiques de la gestion des sédiments contaminés.

En tout, 19 microbioessais et 2 bioessais conventionnels ont été sélectionnés pour l'étude et 15 échantillons de sédiments contaminés à divers degrés ont été prélevés dans différents secteurs du bassin du fleuve Saint-Laurent et des Grands Lacs. Les bioessais ont été réalisés soit sur des sédiments entiers, de l'eau interstitielle ou des extraits organiques. Des analyses physico-chimiques et une étude de la structure de la communauté benthique ont également été réalisées, afin de comparer les résultats des microbioessais avec les niveaux de contamination des sédiments (et de leurs fractions) et la densité et la diversité des communautés benthiques *in situ*.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet ont fait l'objet de deux publications scientifiques parues en 1998. Le lecteur pourra se référer à ces publications pour plus de détails.

Deux séries de bioessais ont eu lieu, soit en 1995 et en 1996. Les tests ont été réalisés dans les laboratoires de BEAK International incorporée, du Centre Saint-Laurent et de EBPI. Voici les bioessais sélectionnés dans le cadre de cette étude.

- | | | |
|--|---|---|
| • Amphipode d'eau douce
(<i>Hyalella azteca</i> , survie et croissance) | • Essai algal mesurant l'activité estérasique
(<i>Selenastrum capricornutum</i>) | • SOS Chromotest ^{MC}
(<i>Escherichia coli</i> PQ37) |
| • Moucheron d'eau douce
(<i>Chironomus riparius</i> , survie et croissance) | • Essai avec l'hydre
(<i>Hydra attenuata</i>) | • Essai algal en phase solide
(<i>Selenastrum capricornutum</i>) |
| • Microtox [®]
(<i>Vibrio fischeri</i>) | • Microtox [®] en microplaque
(<i>Vibrio fischeri</i>) | • Microtox [®] Chronique
(<i>Vibrio fischeri</i>) |
| • Inhibition de la croissance de l'algue verte
(<i>Selenastrum capricornutum</i>) | • Mutatox ^{MC}
(<i>Escherichia coli</i> , mutant sombre) | • Microtox [®] phase solide
(<i>Vibrio fischeri</i>) |
| • Thamnotoxkit F ^{MC}
(<i>Thamnocephalus platyurus</i>) | • Algatoxkit F ^{MC}
(<i>Selenastrum capricornutum</i>) | • ToxiChromoPad ^{MC}
(<i>Escherichia coli</i>) |
| • Rotoxkit F ^{MC}
(<i>Brachionus calyciflorus</i>) | • Daphtoxkit F ^{MC}
(<i>Daphnia magna</i>) | • Essai ATP
(microorganismes <i>in situ</i>) |
| • Daphnia I.Q. ^{MC}
(<i>Daphnia magna</i>) | • SOS Chromotest ^{MC} à contact direct
(<i>Escherichia coli</i> PQ37) | • Modèle hépatocellulaire
(viabilité, OFM, bris d'ADN)
(<i>Onchorynchus mykiss</i>) |

Afin de répondre aux différents objectifs de l'étude, une méthodologie composée de deux niveaux d'évaluation a été développée.

Le premier niveau consistait à comparer les résultats des différents microbioessais aux teneurs de contaminants présents dans les sédiments, aux résultats des bioessais conventionnels et à la structure de la communauté benthique pour chacun des sites pris séparément. Ceci a permis d'observer dans quelle mesure chacun des microbioessais pouvait prédire la toxicité des sédiments et ce, pour chacun des sites à l'étude. Des critères de toxicité ont été établis pour les résultats des différents bioessais, des analyses chimiques et de la structure de la communauté benthique (trois catégories : peu ou pas de danger, danger modéré et danger élevé).

Le deuxième niveau consistait à évaluer la performance des bioessais selon des critères scientifiques et pratiques de nature qualitative et quantitative. On retrouve, entre autres, comme critères scientifiques:

- la répliquabilité;
- la répétabilité;
- la pertinence écologique des bioessais;
- la corrélation des résultats des microbioessais avec ceux des bioessais conventionnels, avec la contamination et avec les substances naturelles présentes dans les sédiments (analyses de corrélation de Spearman).

Les critères pratiques sont quant à eux:

- la vitesse d'exécution des tests;
- le temps entre l'arrivée des échantillons au laboratoire et l'obtention des résultats;
- le rendement analytique (nombre d'échantillons pouvant être testés dans la même journée);
- les coûts du matériel analytique;
- les coûts des instruments analytiques;
- la disponibilité des organismes.

Les microbioessais présentant une concordance avec les résultats des bioessais conventionnels, la contamination des sédiments et la structure de la communauté benthique et possédant une bonne performance de niveau scientifique et pratique ont été retenus pour la batterie bioanalytique multitrophique.

Les résultats des bioessais conventionnels avec *Hyalella azteca* et *Chironomus riparius* ont démontré une bonne concordance avec les résultats de la contamination des sédiments et de la structure de la communauté benthique, justifiant ainsi l'utilisation de ces résultats pour l'évaluation des microbioessais.

Une étude interlaboratoire a été réalisée pour déterminer la réplicabilité et la répétabilité des microbioessais les plus performants. Six laboratoires ont pris part à cette étude: BEAK International incorporée à Dorval (Québec) et à Brampton (Ontario), le Centre Saint-Laurent (Montréal), l'Institut de Recherche en Biotechnologie-CNRC, EBPI (Brampton, Ontario) et le Cemagref, Division biologie des écosystèmes aquatiques (Lyon, France).

Les microbioessais qui ont passé le niveau 1 (concordance avec les résultats des analyses chimiques, toxicologiques avec les essais conventionnels et avec les résultats de la structure de la communauté benthique) sont:

- | | |
|---|--|
| • l'essai ATP (sédiment entier) | • le Microtox® phase solide (sédiment entier) |
| • le ToxiChromoPad ^{MC} (sédiment entier) | • l'essai algal phase solide (sédiment entier) |
| • le Microtox® en microplaque (eau interstitielle et extraits organiques) | • le Microtox® chronique (eau interstitielle) |
| • le Thamnotoxkit F ^{MC} (eau interstitielle et extraits organiques) | • le Daphtoxkit ^{MC} F (eau interstitielle) |
| • le Daphnia IQ ^{MC} (eau interstitielle) | • l'essai avec l'hydre (eau interstitielle et extraits organiques) |
| • SOS Chromotest ^{MC} (eau interstitielle) | |

Les microbioessais qui ont été retenus au niveau 1 et qui passaient également les critères du niveau 2 sont:

- l'essai ATP (sédiment entier)
- l'essai algal phase solide (sédiment entier)
- le Microtox® en microplaque (eau interstitielle)
- le Thamnotoxkit F^{MC} (eau interstitielle)
- le Daphtoxkit F^{MC} (eau interstitielle)
- l'essai avec l'hydre (eau interstitielle)
- le SOS Chromotest^{MC} (eau interstitielle)

En ce qui concerne l'étude interlaboratoire, les microbioessais présentaient une bonne réplicabilité, donc une faible variabilité interlaboratoire, à l'exception du SOS Chromotest^{MC}, ce qui est surprenant pour un essai aussi bien établi. Quant à la répétabilité, il était difficile de la qualifier pour certains bioessais, étant donné l'obtention de valeurs uniques comme résultats (CL₅₀, CMEQ, CSEO, etc.); ces bioessais ayant été réalisés une seule fois.

À partir des résultats précédents, deux batteries de bioessais ont été constituées. La première permet de dépister la toxicité des sédiments sur des organismes en contact direct avec ces derniers. Si les sédiments sont reconnus comme étant toxiques et présentant un danger pour les organismes aquatiques, i.e. lorsqu'un des microbioessais est positif et/ou un seul des contaminants est en concentration supérieure au seuil d'effet néfaste, il est recommandé d'effectuer d'autres essais pour pousser plus loin l'analyse, d'où l'application de la deuxième batterie dite de confirmation (Tableau 1).

Tableau 1 : Batteries suggérées pour l'évaluation de sédiments contaminés

Batterie 1 (dépistage)	Niveau trophique	Bioessais	Fraction
	Producteur primaire	• Essai algal phase solide	• Sédiment entier
	Décomposeurs	• Essai ATP	• Sédiment entier
	Inclure une analyse physico-chimique de différents paramètres (e.g. COT, granulométrie, métaux, HAP, BPC, NH ₃ , SEM et AVS) des sédiments entiers.		
Batterie 2 (confirmation)	Niveau trophique	Bioessais	Fraction
	Consommateurs primaires	• Bioessai conventionnel (survie de <i>H. azteca</i> et/ou <i>C. riparius</i>) • Thamnotoxkit F ^{MC} ou Daphtoxkit F ^{MC}	• Sédiment entier • Eau interstitielle
	Consommateurs secondaires	• Essai avec l'hydre	• Eau interstitielle
	Décomposeurs	• Microtox® (toxicité aiguë) • SOS Chromotest ^{MC}	• Eau interstitielle • Eau interstitielle

Aucun microbioessai sur les extraits organiques n'a été retenu dans les batteries car le coût des extractions demeure à ce jour très élevé. Les microbioessais réalisés sur cette fraction sont donc moins coût-efficaces que ceux réalisés sur sédiment entier ou l'eau interstitielle. Par ailleurs, des études supplémentaires seront nécessaires pour jauger l'utilité d'essais réalisés sur des extraits organiques dans un cadre de gestion.

Ainsi, cette étude a permis de sélectionner des microbioessais parmi les plus prometteurs en terme de prédiction de la toxicité des sédiments pour les invertébrés aquatiques utilisés dans les bioessais conventionnels. À partir de ces résultats, deux batteries de bioessais de niveaux trophiques différents ont pu être établies, afin de dépister et d'évaluer la toxicité de sédiments contaminés. Ces batteries pourront être utilisées dans le cadre de projets de gestion de sédiments contaminés.

La présente étude a également permis de développer des critères de toxicité aidant à interpréter les résultats de chacun des bioessais à l'étude, lesquels pourront être utilisés par les gestionnaires de projets et le personnel de laboratoire.

Étant donné que cette étude est une des premières à comparer les réponses des microbioessais à celles des bioessais conventionnels, des analyses physico-chimiques et de la structure de la communauté benthique, la réalisation d'études additionnelles est recommandée afin d'améliorer les batteries suggérées et de poursuivre la validation des microbioessais qui ne sont pas encore tout à fait normalisés.

