

98
10183

Approche intégrée pour
l'évaluation écotoxicologique
de rejets industriels



3603267H

APPROCHE INTÉGRÉE
POUR L'ÉVALUATION ÉCOTOXICOLOGIQUE
DE REJETS INDUSTRIELS



Environnement Canada
Laboratoire Centre Saint-Laurent
Longueuil

FC
2759
E3
A66

INTRODUCTION

Une fraction importante des nombreuses études écotoxicologiques concerne la contamination des milieux aquatiques par les eaux de rejets industriels (e.g. Blaise et Costan 1988; Blaise et al., 1987, 1986; Dafoe et al., 1987; Anonymous 1986, 1981; Gersich et Mayes 1986; Couillard 1980; Metikosh et al., 1980; Cairns et al., 1979). Identifiés comme une source majeure de contaminants (Blaise et al., 1988), les résidus liquides industriels sont souvent très complexes. Devant une telle situation, l'évaluation écotoxicologique de ceux-ci a largement dépassé le cadre de la caractérisation physico-chimique.

Pour répondre aux attentes explicatives et prédictives d'une telle évaluation (McGregor et Wells 1984), la réponse des organismes vivants soumis à l'agression toxique constitue le point central des stratégies de dépistage (Blaise et al., 1985; Moriarty 1983; Ramade 1979; Butler 1978). Depuis les trois dernières décades, le développement d'outils (bio-tests, indicateurs biologiques) a fortement contribué à la compréhension de l'impact potentiel des substances toxiques sur les composantes et la dynamique des écosystèmes récepteurs.

Parmi les diverses stratégies de dépistage des effets toxiques (Blaise et al., 1988; Van Coillie et al., 1984; Cairns 1983; Lloyd 1980), l'approche simultanée intègre analyses chimiques et biologiques dans une vision multidimensionnelle de l'écotoxicité (organismes représentatifs de plusieurs niveaux trophiques, divers seuils de toxicité, nature et persistance des polluants). Elle vise, de plus, l'identification de problèmes environnementaux autres que toxiques, tels l'eutrophisation, les perturbations physico-chimiques et la contamination bactérienne (Blaise et al., 1985).

Une approche expérimentale de laboratoire potentiellement prédictive est préconisée. Elle combine efficacité pratique, rapidité et coûts réduits par rapport aux études de terrain. En contre-partie, les résultats semblent difficilement extrapolables au milieu naturel. Toutefois, la concordance des effets observés en laboratoire et sur le terrain se confirme de plus en plus (Mount et al., 1984). L'approche expérimentale comprend 3 étapes majeures regroupant chacune une série de tests et de mesures réalisés simultanément. Chaque étape est destinée à cerner la nature du problème avec plus de précision. Le passage d'une étape à l'autre dépend donc des résultats bio-analytiques obtenus ainsi que du degré de spécificité désiré dans l'acquisition de l'information. Les diverses phases de cette approche développée dans nos laboratoires sont décrites ci-après.

DÉMARCHE OPÉRATIONNELLE ET DÉCISIONNELLE

1 - Étape préliminaire

Un échantillon de 4L de l'effluent est récolté lors de la première visite du site industriel. A partir de cet échantillon, on détermine 1) le danger potentiel de l'effluent pour le personnel de terrain et de laboratoire, 2) les conditions analytiques requises et la pertinence d'effectuer certains tests (e.g. biodégradation, bioaccumulation) pour l'évaluation écotoxicologique subséquente. Des mesures de pH, coliformes fécaux, substances volatiles, ainsi qu'un SOS Chromotest, renseignent respectivement sur la nature corrosive, pathogène, volatile (toxique ou explosive) et génotoxique de l'effluent. Deux types d'analyses sont effectués en utilisant trois dilutions de l'effluent (50, 10 et 2% v/v). Les paramètres analytiques nécessaires au test de bioaccumulation sont fixés dans cette étape préliminaire à l'aide d'un biotest de croissance algale. Ce test est détaillé plus avant (voir section G - Bioaccumulation inorganique). Les mesures de pH et de carbone organique total permettent d'estimer l'activité bactérienne et

d'évaluer la biodégradabilité de l'effluent. Les résultats mènent à une prise de décision quant à la réalisation d'un test de biodégradation dans l'étape suivante.

2 - Évaluation écotoxicologique

La figure 1 synthétise l'ensemble de la procédure analytique applicable à un effluent d'origine totalement inconnue. C'est en quelque sorte le portrait théorique d'une évaluation écotoxicologique. En pratique, plusieurs points de l'approche peuvent 1) ne pas être réalisés, 2) être modifiés, 3) être remplacés par un test plus approprié selon les connaissances préalables de l'échantillon visé (origine industrielle, type de procédé, présence ou non de traitement avant rejet, type de traitement, etc.). L'approche offre donc une certaine souplesse dans sa réalisation pratique. Les analyses et les biotests de la première étape sont réalisés simultanément à partir d'un échantillon de 35 litres provenant de l'effluent final ou d'eaux de procédés industriels spécifiques. Cet échantillon est composé sur le terrain sur une période de 8 à 24 heures (d'après les modalités opérationnelles des usines) selon un protocole d'échantillonnage convenu par Environnement Canada (Vezeau 1982). L'échantillon de 35 L est subdivisé en laboratoire pour les analyses suivantes:

A) Dépistage bactériologique

Les eaux de rejets industriels peuvent contenir un nombre élevé de micro-organismes potentiellement nuisibles pour la santé humaine et la vie aquatique. C'est le cas notamment de l'industrie de l'alimentation, des pâtes et papiers, et plus généralement de toute industrie dont les eaux usées domestiques sont mélangées à celles des procédés. Pour évaluer les risques d'une telle pollution, le groupe des coliformes fécaux est utilisé comme indicateur de la contamination bactériologique de l'effluent. Un dénombrement des coliformes fécaux (1.1) est réalisé selon des méthodes normalisées (APHA et al., 1985; Washington et al., 1971). Un nombre élevé (~100/100mL) justifie une étude plus approfondie

de ces germes. Quoique les coliformes fécaux ne soient généralement pas reconnus pathogènes, l'usage répandu des antibiotiques en médecine et en agriculture a contribué, par pression sélective, au développement de facteurs de résistance à divers antibiotiques (Env. Canada 1978, 1975; Grabow et al., 1975). Les coliformes fécaux peuvent alors représenter un réservoir de facteurs de résistance (Blaise et Legault 1979). Cette résistance peut être acquise notamment par les bactéries Gram-négatives (parmi lesquelles on retrouve les entérobactéries pathogènes), par transfert d'éléments d'acides nucléiques extra-chromosomiques (plasmides) capables de se reproduire indépendamment du chromosome bactérien (Watanabe 1963). Divers types de pathogènes (Salmonella, Pseudomonas, Aeromonas, Proteus, Shigella) fréquemment associés aux coliformes fécaux (Geldreich 1972) pourraient être impliqués dans ce transfert de résistance (Grabow et al., 1974). Un test de résistance aux antibiotiques (2.1) sur des souches isolées de coliformes fécaux renseignera sur les risques de contamination du milieu récepteur. L'identification de pathogènes spécifiques (3.1) complète l'information. Par ailleurs, un dépistage pour Aeromonas hydrophila (Shotts et Rimler 1973), pathogène fréquent des poissons, est également entrepris dans ce volet.

B) Toxicité létale aiguë (CL₅₀ exploratoire)

Elle se définit comme la résultante d'une courte exposition à une substance où l'organisme-test ou la biomasse exposée cesse de vivre (note de service non-publiée, Environnement Canada). La létalité des composantes physiques, chimiques et bactériologiques de l'effluent est déterminée par un biotest avec truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri Richardson). La grande sensibilité et le caractère cosmopolite de cette espèce, justifient son utilisation largement répandue dans les laboratoires d'écotoxicologie. La méthodologie utilisée est rigoureusement identique à celle du test standardisé (Environnement Canada 1989a) mais à une échelle réduite; d'où le caractère exploratoire de cette étape. Trois dilutions de l'effluent (100, 10 et 1% v/v)

constituent les traitements du test. Quatre poissons sont soumis à chacun des traitements. Après 96 heures d'exposition, le degré de toxicité létale de l'effluent est inféré sur la base de la concentration toxique de l'effluent produisant 50% de mortalité chez les organismes. Les résultats sont exprimés sous forme d'unités toxiques ($100/CL_{50}$). Une toxicité élevée (>10 U.T.) justifie une expérimentation complète (3.2) afin de mieux préciser le seuil de toxicité létale.

C) Toxicité sublétale (ATP stress)

Une faible mortalité suite à un test de toxicité létale (CL_{50} exploratoire ou complète) n'indique pas nécessairement une faible toxicité de l'effluent. En effet, les fonctions vitales de l'organisme peuvent être altérées, diminuant ainsi les probabilités de survie à plus ou moins long terme. La recherche d'effets sublétaux peut alors être envisagée. Plusieurs études, portant sur une gamme étendue de substances toxiques, suggèrent une forte corrélation entre les niveaux de toxicité létale et l'intensité des effets sublétaux (Blaise 1984; McLeay et Howard 1977; Slooff et Canton 1983; Kenaga 1982). Les effets sublétaux s'intensifient de façon linéaire avec l'accroissement des effets létaux observés. La nature prédictive de cette relation doit cependant être utilisée avec prudence face à la complexité chimique de plusieurs effluents (Blaise 1984). Un test sublétal est par conséquent souhaitable. En pratique, l'absence ou une faible mortalité (<10 U.T.) au cours d'une CL_{50} n'entraînera pas la réalisation du test sublétal sur la truite arc-en-ciel. Des études récentes ont démontré que les effets sublétaux sont peu significatifs dans une telle situation (Blaise et al. 1986).

La toxicité sublétale se définit comme la résultante d'une exposition à une substance où l'organisme-test ou la biomasse exposée subit un effet nocif normalement réversible. Selon que la durée d'exposition soit courte ou prolongée, le niveau de sublétalité est qualifié respectivement d'aigu ou de subaigu (note de service non-publiée, Environnement Canada). Chez la truite arc-en-ciel, la

mesure du stress occasionné par une courte durée d'exposition à l'effluent (96 heures) est obtenue par le dosage de l'ATP dans le muscle squelettique (Environnement Canada 1989b). Le test (3.3) est réalisé sur les survivants à l'étape de toxicité létale (CL_{50} complète). Parmi les différents paramètres biochimiques pouvant être utilisés, la concentration cellulaire en nucléotides adénylates (AMP, ADP, ATP) constitue une mesure représentative de l'activité métabolique générale. L'omniprésence de ces métabolites dans les cellules vivantes et leur participation aux processus anaboliques et cataboliques, en font un outil de choix pour la détection d'un niveau altéré de vitalité (Blaise 1984; Karl 1980). Une concentration d'ATP significativement différente par rapport à un témoin (Environnement Canada 1989b) ou une modification dans les proportions des nucléotides adénylates (Blaise 1984) déterminent l'état de stress. Des méthodes alternatives reflètent également la toxicité sublétale: mesures sur les oxydases à fonctions mixtes (voir revue Payne 1984) ou sur les métallothionéines (Karin 1985; Levy et al. 1983; Cherian et Goyer 1978), mesures éthologiques sur les réactions d'évitement ou la capacité natatoire (Hadjinicolaou 1983, Thellen 1983).

D) Physico-chimie et indice biologique

L'interprétation des résultats des tests biologiques ne peut qu'être partielle, sans le support analytique de la chimie. Une analyse sommaire des caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon (1.3) permet, en première instance, l'évaluation de la toxicité primaire de l'échantillon (i.e. les causes possibles les plus apparentes). Les mesures de température, pH, chlore et solides (totaux, en suspension, dissous) fournissent une appréciation rapide de la toxicité flagrante de l'échantillon. Une valeur excessive (à la hausse ou à la baisse) d'un ou plusieurs de ces paramètres, peut être contrôlée par une dilution de l'échantillon. On permet ainsi une évaluation plus fine de la composition toxique de l'échantillon sans en altérer la nature. Une valeur de solides supérieure à 100 mg/L dans la fraction particulaire peut, par exemple, conduire à un balayage des métaux (2.2), et/ou un test

de génotoxicité (2.9). Toute autre substance, cyanures (2.3) ou sulfures (2.4), jugée pertinente sur la base d'informations du type de procédé industriel ou d'observations sur le terrain, peut être analysée. Par ailleurs, il est possible que les effets toxiques observés demeurent inexpliqués au terme des diverses analyses et bio-tests de la première étape. Dans un tel cas, l'analyse chimique approfondie est doublement justifiée et peut s'étendre au balayage organique (3.4) et/ou à d'autres substances spécifiques (3.5).

En complément à ces analyses, l'activité biologique de l'échantillon est mesurée (1.4). La quantité d'ATP produite par l'activité biotique de l'échantillon (Environnement Canada 1989b, 1985) renseigne sur le potentiel de biodégradation. Outre l'information générée, ces analyses orientent donc la démarche opérationnelle et décisionnelle subséquente.

E) Toxicité organique et interaction algale

Les diverses analyses de cette section offrent une dimension sublétales chronique (génotoxicité, bioaccumulation) et sublétales aiguë (inhibition de croissance) de la toxicité attribuable principalement aux substances organiques dissoutes dans l'échantillon. Ces analyses s'appliquent concrètement aux secteurs industriels susceptibles de rejeter d'importantes quantités de matière organique (pâtes et papiers, pétrochimie, raffineries, industries de l'alimentation, etc.). Depuis les deux dernières décades, plusieurs travaux ont démontré l'importance des polluants organiques comme source d'altération du matériel génétique (Harwood et al. 1988; Schoeny et al. 1985; McCann et al. 1975). Le potentiel mutagénique et cancérogène de ces substances ne peut donc être négligé si l'on veut évaluer les conséquences à long terme d'une telle agression.

Le potentiel toxique des substances organiques dissoutes est évalué à partir d'une extraction de l'échantillon (1.5). La méthode

utilisée (EPA 1985) repose sur une extraction acide et basique au chlorure de méthylène. On assume que la méthode extrait essentiellement les substances organiques. Il est possible de soumettre à cette évaluation les fractions acide et basique de l'extrait pour une recherche plus sélective. L'échantillon concentré (~3000 fois) est utilisé pour évaluer la génotoxicité de ces substances (1.8). Le SOS Chromotest (Quillardet et al. 1982) détermine la capacité d'induction mutagénique de l'extrait, sur une souche de la bactérie Escherichia coli, modifiée génétiquement pour déterminer les dommages causés à l'ADN chromosomique.

Le même concentré organique est utilisé pour un test d'inhibition de croissance algale (Blaise 1986) avec Selenastrum capricornutum (1.6). L'inhibition de croissance est testée à diverses concentrations de l'extrait durant 24 heures. Au terme de l'expérience, un dénombrement cellulaire au compteur électronique de particules permet de déterminer la concentration subléthale requise pour tester l'interaction algues-toxicité organique (1.7). Des études récentes ont démontré le rôle prépondérant des algues dans le devenir toxique des composantes chimiques d'un effluent. L'objectif est d'identifier un phénomène possible de détoxification (Schoeny et al. 1985; Warshawsky et al. 1983), d'activation et de potentialisation (Harwood et al. 1988; Gentile et al. 1988), ou de bioaccumulation (Schoeny et al. 1985; Irha et al. 1983) des substances toxiques. Après 24 heures d'exposition, le pH et un dénombrement cellulaire (1.9) permettent de vérifier la viabilité algale. L'activité biologique (1.10) par les mesures d'ATP algales (Blaise 1984) complémente cette information. Le milieu algal est alors soumis à une centrifugation (1.11) ou filtration et la génotoxicité sur l'extrait du surnageant (1.12) et du culot algal (1.13) est analysée via le SOS Chromotest. Une réponse génotoxique significative de l'une ou l'autre de ces fractions entraîne la reprise du test d'interaction algale à diverses concentrations de l'extrait organique, pour établir une courbe dose-réponse (2.5). Les résultats doivent cependant être interprétés avec prudence. De nombreuses hypothèses peuvent en effet être envisagées pour expliquer les divers processus d'activation, de désactivation ou de bioaccumulation génotoxique. L'identification et la quantification des substances organiques (3.4) présentes dans le surnageant et le culot

permettent cependant de mieux cerner les phénomènes visés.

F) Caractérisation chimique, toxicité de la fraction dissoute et potentiel de fertilité

L'ensemble de la procédure de cette section est orientée vers la toxicité des substances dissoutes de l'échantillon et leur potentiel d'eutrophisation. On y retrouve une dimension toxique sublétales chronique et sublétales aiguë, à deux niveaux trophiques (décomposeurs et producteurs primaires). Les substances dissoutes constituent la fraction biodisponible pour les organismes pélagiques. Elle concerne donc le potentiel toxique de substances organiques et inorganiques directement assimilables par les organismes, ainsi que l'enrichissement en éléments nutritifs du milieu récepteur.

L'échantillon est filtré ou centrifugé (1.14) et le culot est congelé à -20°C (1.15) pour analyses ultérieures si nécessaire (2.9, 3.4, 3.5). Certaines substances organiques non-solubles dans l'eau peuvent être agglomérées aux solides en suspension et donc se retrouver dans le culot. Cette fraction pourrait être notamment utilisée pour un dépistage écotoxicologique sur les organismes benthiques, plus susceptibles d'être en contact avec les molécules chimiques précipitées dans les sédiments. A partir du surnageant, une série d'analyses chimiques et biologiques sont effectuées. La génotoxicité des substances dissoutes (1.16) mesure l'impact toxique au niveau sublétales chronique. Ce seuil de toxicité est défini comme la résultante d'une exposition (courte ou prolongée) à une substance où l'organisme-test ou la biomasse exposée subit soit une accumulation de substance(s) toxique(s) et/ou une accumulation d'effets nocifs, soit un effet nocif normalement irréversible (note de service non-publiée, Environnement Canada).

Les mesures de conductivité (1.19), de carbone organique total et de dureté (1.17), ainsi qu'un balayage des métaux (1.21) permettent d'expliquer partiellement les résultats positifs ou négatifs des

bio-tests réalisés en parallèle (1.20). Une valeur élevée de carbone organique total et/ou de dureté peut masquer la toxicité des substances inorganiques par la formation de complexes chimiques (Environnement Canada 1985). Les résultats des bio-tests sous-estiment alors la toxicité potentielle de ces substances. Tout autre paramètre pertinent, selon la connaissance du type d'industrie, peut être dosé dans une étape ultérieure; exemple les phénols (2.6), l'ammoniaque (2.8), etc. Les bio-tests se situent au seuil de toxicité sublétales aiguës. Le test Microtox (Beckman Instruments 1982) mesure l'inhibition de lumière émise par la bactérie Photobacterium phosphoreum. Le test algal avec Selenastrum capricornutum et le test avec protozoaires, Colpidium campylum Stokes (Dive et Leclerc 1977), mesurent l'inhibition de croissance de la population exposée. Dans les trois cas les résultats sont exprimés sous forme de CI_{50} (concentration de l'échantillon v/v qui réduit de 50% l'intensité lumineuse ou la croissance de la population respectivement pour chacun des tests).

Le potentiel de fertilité (1.19) traduit l'enrichissement en éléments nutritifs du milieu récepteur par les eaux de rejet. Le test repose sur l'augmentation d'une biomasse algale pré-déterminée de Selenastrum capricornutum, après 8 jours d'exposition aux eaux de l'effluent. L'interférence due à la toxicité (si existante) de l'effluent est également considérée dans le design expérimental (Keighan 1977; Miller et al. 1974).

G) Bioaccumulation inorganique

Vu leur importance et leur position dans la hiérarchie trophique, les producteurs primaires sont particulièrement susceptibles d'accumuler un grand nombre de substances plus ou moins toxiques. En corollaire à cette éventualité, les répercussions sur les niveaux supérieurs du réseau trophique peuvent parfois être considérables (Moriarty 1983; Bryan 1979; Prosi 1979; Scura et Thielacker 1977; Reinert 1972). Cette accumulation est fonction de trois facteurs principaux: la biomasse algale exposée,

le temps d'exposition et la quantité de toxique dans le milieu environnant. La démarche expérimentale est en cours de développement. Un indice regroupant ces facteurs a été proposé (Birmingham, non-publié). L'indice BTQ peut être utilisé comme point de référence pour déterminer à partir d'un pré-test algal lors de l'étape préliminaire, les conditions représentatives du milieu en termes de biomasse (B), temps d'exposition (T) et quantité de toxique (Q), pour l'étape de bioaccumulation inorganique (1.18). Le pré-test est construit selon un design de type multi-factoriel utilisant 3 concentrations algales, 3 dilutions de l'effluent et 2 temps d'exposition. Il permet d'évaluer l'importance relative de chacun des trois facteurs et teste également les interactions possibles entre eux. Le dénombrement cellulaire de chaque traitement constitue la variable mesurée.

L'indice BTQ est une projection spatio-temporelle de l'accumulation potentielle d'un litre de rejet toxique. La courbe théorique de l'indice en fonction de la distance en aval du rejet atteint un plateau aux environs de 30 (Birmingham et al. 1986). Cette valeur théorique constitue le point de référence pour l'étape de bioaccumulation. Il s'agit essentiellement d'utiliser la combinaison des trois facteurs (biomasse algale, temps d'exposition et quantité de toxique) dont la valeur obtenue se rapproche le plus de la valeur théorique, parmi l'ensemble des combinaisons fixées lors du pré-test. Au terme de l'étape de bioaccumulation, la mesure du pH et le dénombrement cellulaire (1.22) ainsi que l'indice biologique (1.23) permettent de vérifier la viabilité algale dans les conditions expérimentales déterminées par le pré-test. Le milieu algal est alors filtré ou centrifugé (1.24), et un balayage des métaux est réalisé sur le culot algal (1.25). Les résultats exprimés sous forme de Facteur de Bioaccumulation peuvent être comparés à ceux obtenus directement sur l'échantillon sans algues (1.21).

$$FB = \frac{\mu\text{g de toxiques accumulés/g d'algues}}{\mu\text{g de toxiques disponibles/ml}}$$

La bioaccumulation est considérée significative pour une valeur de $FB > 1000$ (Ska et al. 1984). On détermine alors une dose-réponse (2.7) en répétant le test avec 30 et 10% de la concentration initiale.

H) Biodégradation de l'échantillon

Selon les résultats de Carbone organique total de l'étape préliminaire, un test de biodégradation complète l'information sur la nature et la toxicité de l'échantillon (1.26). Ce test permet d'évaluer 1) la biodégradabilité des substances présentes dans l'effluent, 2) les modifications de la toxicité de l'effluent résultant de l'activité microbiologique. Pour accélérer le processus de biodégradation, un mélange bactérien standardisé (Environnement Canada 1989c) est ajouté à l'échantillon. Après 5 jours, le pH (1.27) et l'indice biologique (1.28) sont mesurés. L'échantillon est filtré ou centrifugé (1.29) et le carbone organique total est mesuré sur le surnageant. Une diminution du carbone organique total de l'ordre de 50% et plus indique une bonne biodégradabilité de l'échantillon. Toutefois, certains produits de l'activité microbiologique, tel l'ammoniaque (2.12), sont susceptibles de produire une toxicité a posteriori. Il est souhaitable alors de vérifier la persistance de toxicité dans l'échantillon, par les tests de génotoxicité (2.10) et/ou les bio-tests (2.11). Finalement, les substances toxiques pouvant passer de la colonne d'eau aux sédiments, un test de génotoxicité est également réalisé à partir du culot (2.13). Il est à noter que cette étape de biodégradation peut être remplacée au besoin par une expérimentation mieux appropriée au procédé industriel (neutralisation, floculation, etc.).

RÉFÉRENCES

- Anonymous. 1986. Municipal-Industrial Strategy for Abatement (MISA): A policy and program statement of the government of Ontario on controlling municipal and industrial discharges into surface waters. Ontario Ministry of the Environment, 52 pp.
- _____. 1981. Toxicity of industrial effluents in Ontario, January 1969 to December 1981. Ontario Ministry of the Environment, Water Resources Branch, Rexdale, Ontario, 12 pp and appendices.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) et WPCF (Water Pollution Control Federation). 1985. Standard Methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. APHA ed., Washington, D.C.
- Beckman Instruments Inc. 1982. Microtox System Operating Manual 015555879. Carlsbad, CA, USA, 62 pp.
- Birmingham, N., E. Fedida et R. Vezeau. 1986. Interprétation écotoxicologique des effluents N.L. Chem. Varennes et Tioxyde Tracy. Environnement Canada, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec. 16 pp.
- Blaise, C. 1986. Micromethod for acute aquatic toxicity assessment using the green alga Selenastrum capricornutum. Toxicity Assessment: An International Quarterly 1: 377-385.
- Blaise, C. 1984. Développement de bioessais sublétaux pour les évaluations écotoxicologiques des effluents. Thèse de Doctorat, Univ. Metz, Metz, France, 172 pp.
- Blaise, C. et G. Costan. 1988. La toxicité létale aiguë des effluents industriels au Québec vis-à-vis de la truite arc-en-ciel. Water Poll. Res. J. Canada 22: 385-402.
- Blaise, C. et R. Legault. 1979. Aspects microbiologiques de certaines eaux résiduelles de l'industrie de l'alimentation. Pages 304-344 in: Comptes-rendus des conférences techniques de l'AQTE (Association Québécoise des Techniques de l'Eau), 27 avril 1979, Montréal.
- Blaise, C. G. Sergy, P. Wells, N. Birmingham et R. van Coillie. 1988. Biological Testing - Development, Application, and trends in Canadian Environmental Protection Laboratories. Toxicity Assessment: An International Journal 3: 385-406.
- Blaise, C., R. van Coillie, N. Birmingham et G. Coulombe. 1987. Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papiers. Rev. Int. Sciences de l'Eau 3: 9-17.
- Blaise, C., B. Trottier, R. van Coillie et P. Couture. 1986. Évaluation de la

- Blaise, C., B. Trottier, R. van Coillie et P. Couture. 1986. Évaluation de la toxicité sublétales des effluents industriels vis-à-vis du poisson en mesurant l'ATP du muscle squelettique. *Water Poll. Res. J. Canada* 21: 71-90.
- Blaise, C., N. Bermingham et R. van Coillie. 1985. The integrated ecotoxicological approach to assessment of ecotoxicity *Water Qual. Bull.* 10: 3-10, 60-61.
- Bryan, G.W. 1979. Bioaccumulation of marine pollutants. *Ph. Trans. R. Soc. London, B.* 286: 483-505.
- Butler, G.C. 1978. Principles of Ecotoxicology. G.C. Butler, Ed., SCOPE, Vol. 12, Wiley, Chichester.
- Cairns, J. Jr. 1983. Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? *Hydrobiologia* 100: 47-57.
- Cairns, V.W., K. Carn et B.E. Jank. 1979. Fish toxicity evaluation of effluents from an organic chemical production complex, BASF, Germany. Environment Canada, Environmental protection Service, Technology and Development Report EPS-4-WP-79-3.
- Cherian, M.G. et R.A. Goyer. 1978. Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. A mini-review. *Life Sci.* 23: 1-10.
- Couillard, D. 1980. Évaluation de la pollution et des répercussions des rejets des industries des pâtes et papiers sur la vie aquatique. *The Science of the Total Environment* 14: 167-184.
- Dafoe, T., J.H. Carey, S.H. McCrindle, P.G. Wells et R.C.H. Wilson. 1987. Relationships between the biological testing of industrial effluents and the quality of receiving waters - Some Canadian case studies. *Water Poll. Res. J. Canada* 22: 251-269.
- Environment Canada. 1989a. Acute lethality test using rainbow trout (Salmo gairdneri). Conservation and Protection, Environment Canada, Ottawa, 54 pp.
- _____. 1989b. Évaluation du stress physiologique chez la truite arc-en-ciel par le dosage de l'ATP. Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec, 41 pp.
- _____. 1989c. Essai de biodégradation. Protocole interne, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec, 3 pp.
- _____. 1985. Rapport d'évaluation écotoxicologique d'effluents d'industries de chimie-organique. Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec, 125 pp.
- _____. 1984. Proceedings of the OECD Workshop on the Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters), Duluth, MN, September 1984. Environment Canada, Ottawa, 367 pp.

- EPA (Environmental Protection Agency). 1985. Guidelines for preparing environmental and waste samples for mutagenicity (Ames) testing: Interim Procedures and Panel Meeting Proceedings (EPA/600/4-85/058).
- Geldreich, E.E. 1972. Water-borne pathogens. Pages 207-241 in: R. Mitchell (Ed.). Water pollution microbiology. Wiley and Sons, N.Y.
- Gentile, T.M., M. Lippert, T. Shafer et M.J. Plewa. 1988. Metabolic activation of chemical mutagens by the green alga Selenastrum capricornutum in the plant cell/microbe coinoculation assay. Tox. Assess. Bull. (in press).
- Gersich, F.M. et M.A. Mayes. 1986. Acute toxicity tests with Daphnia magna and Pimephales promelas in support of national pollutant discharge elimination permit requirements. Water Res. 20: 939-941.
- Grabow, W.O.K., O.W. Prozesky et L.S. Smith. 1974. Drug resistant coliforms call for review of water quality standards. Water Res. 8: 1-9.
- _____. 1975. Drug resistant coliforms call for re-evaluation of water quality standards. Water Pollution Control.
- Hadjinicolaou, J. 1983. Water pollution control with toxicant avoidance tests. Thèse de doctorat, Univ. McGill, Montréal, 425 pp.
- Harwood, M., C. Blaise et P. Couture. 1988. Algal interactions with the genotoxic activity of selected chemicals and complex liquid samples. Aquat. Toxicol. (in press).
- Karin, M. 1985. Metallothioneins: proteins in search of function. Cellule 41: 9-10.
- Karl, D.M. 1980. Cellular nucleotide measurements and application in microbial ecology. Microbiol. Rev. 44: 739-796.
- Keighan, E. 1977. Caractérisation du niveau d'enrichissement et de la toxicité des eaux du bassin du fleuve Saint-Laurent. Comité d'étude sur le fleuve Saint-Laurent. Environnement Canada, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec, Rapport technique No 6, 153 pp.
- Kenaga, E.E. 1982. Predictability of chronic toxicity from acute toxicity of chemicals in fish and aquatic invertebrates. Environmental Toxicology and Chemistry 1: 347-358.
- Ley, H., M.L. Failla et D.S. Cherry. 1983. Isolation and characterization of hepatic metallothionein from Rainbow trout (Salmo gairdneri). Comp. Biochem. Physiol. 74: 507-513.
- Lloyd, R. 1980. Toxicity testing with aquatic organisms: A framework for hazard assessment and pollution control. Rapport des réunions du Conseil International d'Exploration de la Mer 179: 339-341.
- MacGregor, D.J. et P.G. Wells. 1984. The role of ecotoxicological testing of effluents and chemicals in the Environmental Protection Service. EPS Technical Report, Environment Canada, Ottawa, 56 pp.

- McCann, J., E. Choi, E. Yamasaki et B.N. Ames. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72: 5135-5139.
- McLeay, D.J. et T.E. Howard. 1977. Comparison of rapid bioassay procedures for measuring toxic effects of bleached Kraft mill effluent to fish. Pages 141-155 in: Proceedings of the 3rd Aquatic Toxicity Workshop, Halifax, Canada. Environmental Protection Service, Technical Report No EPS-5-AR-77-1.
- Metikosh, S., V.W. Cairns et B.E. Jank. 1980. Toxicity assessment of treated municipal effluents. Environment Canada, Environmental Protection Service, Technology and Development Report EPS-4-WP-80-1, February.
- Miller, W.E., T.E. Malloney et J.C. Greene. 1974. Algal productivity in 49 lake waters as determined by algal assays. Water Res. 8: 667-679.
- Moriarty, F. 1983. Ecotoxicology. The study of Pollutants in Ecosystems. Academic Press, London, 233 pp.
- Mount, D.I., N.A. Thomas, T.J. Norberg, M.T. Barbour, T.H. Roush et W.F. Brandes. 1984. Effluent and ambient toxicity testing and instream community response on the Ottawa River, Lima, Ohio. US Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota 55804, Report EPA-600/3-84-080, 96 pp.
- Payne, J.F. 1984. Mixed-function oxygenases in biological monitoring programs: review of potential usage in different phyla of aquatic animals. Pages 625-655 in: G. Persoone, E. Jaspers, and C. Claus (Eds.). Ecotoxicological Testing for the Marine Environment. State Univ. Ghent and Inst. Mar. Sci. Res., Breda, Belgium.
- Prosi, F. 1979. Heavy metals in aquatic organisms. Pages 271-323 in: U. Förstner and G.T.W. Wittmann (Eds.). Metal pollution in the aquatic environment. Springer, Berlin.
- Quillardet, P., O. Huisman, R. D'Ari and M. Hofnung. 1982. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5971-5975.
- Ramade, F. 1979. Ecotoxicologie. 2ième édition, Masson, Paris, 220 pp.
- Reinert, R.E. 1972. Accumulation of dieldrin in an alga (Scenedesmus obliquus), Daphnia magna, and the guppy (Poecilia reticulata). J. Fish. Res. Board Can. 29: 1413-1418.
- Schoeny, R., T. Cody, M. Radike et D. Warshawsky. 1985. Mutagenicity of algal metabolites of benzo[a] pyrene for Salmonella typhimurium. Env. Mutagen. 7: 839-855.
- Scura, E.D. et G.H. Thielacker, 1977. Transfer of the chlorinated hydrocarbon PCB in a laboratory marine food chain. Mar. Biol. 40: 317-325.
- Shotts, E.B. et R. Rimler. 1973. Medium for the isolation of Aeromonas

hydrophila. Appl. microbiol. 26: 550-553.

- Ska, B., C.E. Delisle et C. Blaise. 1984. Évaluation de la bioaccumulation à l'aide d'un test biologique combiné algue-bactérie. Environmental Technology Letters 5: 69-74.
- Slooff, W. et J.H. Canton. 1983. Comparison of the susceptibility of 11 freshwater species to 8 chemical compounds. Part II (Semi) chronic toxicity tests. Aquat. Toxicol. 4: 271-282.
- Thellen, C. 1983. Pertinence des ichthyotests sous létaux pour les études d'impact local et régional. Thèse de Doctorat, Univ. Paul Sabatier, Toulouse, France, 139 pp.
- Van Coillie, R., N. Bermingham et C. Blaise. 1984. Approche intégrée suggérée pour l'évaluation de l'écotoxicité des effluents. Pages 189-244 in: Comptes-rendus de la conférence sur les tests biologiques et évaluation des risques. Environnement Canada, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec.
- Vezeau, R. 1982. Protocoles d'échantillonnage, de préservation et de préparation des échantillons pour les analyses des polluants prioritaires. Environnement Canada, Service de la Protection de l'Environnement, Région du Québec, 35 pp.
- Warshawsky, D., T. Cody, M. Radike, B.A. Smiddy et B. Nagel. 1983. Toxicity and metabolism of benzo[a] pyrene in the green alga Selenastrum capricornutum. Pages 1235-1246 in: M. Cook and A. Dennis (Eds.). Polynuclear aromatic hydrocarbons: chemistry and biological effects. Battelle Press.
- Washington, J.A., P.K.W. Yu et W.J. Martin. 1971. Evaluation of accuracy of multitest micromethod system for the identification of eutrobacteriaceal. Appl. Microbiol. 22: 267-269.
- Watanabe, T. 1963. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. Bacteriol. Rev. 27: 87-115.

ETAPE 3

