

#97834

TD 200-500

SE 20.30

FINAL

#8 TD
227

CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE
DES EAUX PROVENANT DE QUATRE
DEPOTOIRS D'ENFOUISSEMENT

Rapport préparé par
R. Van Coillie*, C. Blaise**, P. Couture*** et F. Denizeau****

pour
ENVIRONNEMENT CANADA
Service de Protection de l'Environnement



Rédigé en septembre 1982
Révisé en mars 1983
Publié en août 1983



- * Eco-Recherches Inc. (filiale de C-1-L), 121 boulevard Hymus, Pointe Claire, Québec, H9R 1E6.
- ** Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Région du Québec, 1001 Place Pierre Dupuy, Longueuil, Québec, J4K 1A1.
- *** Institut National de la Recherche Scientifique, Université du Québec, 2700 rue Einstein, Sainte-Foy, Québec, G1V 4C7.
- **** Université du Québec à Montréal, Département de Chimie, C.P. 8888, Succursale "A", Montréal, Québec, H3C 3P8.

TD
227
.Q4
C39
1983

RESUME

Au cours de l'hiver 1982, les eaux de 4 dépotoirs du Québec ont été prélevées à 5 sites d'échantillonnage, A, B, C, D et D'. Ces dépotoirs contenaient respectivement des déchets urbano-industriels, domestiques, agricoles et mixtes. Dans ce dernier cas, des échantillons ont été prélevés dans la lagune (site D) et à l'interface sol-dépotoir (site D').

Une étude écotoxicologique interdisciplinaire de ces eaux a été faite.

D'abord, on a considéré les sites eux-mêmes et on a examiné la qualité chimique des eaux (64 paramètres: 23 inorganiques, 29 organiques et 12 physico-chimiques), leur qualité bactériologique (10 paramètres) ainsi que leur toxicité létale (test CL50-96 heures).

Ensuite, on a considéré que ces eaux se diffusent dans l'environnement régional et, pour cette raison, leur toxicité sous-létale a été précisée à court terme (moins de 96 heures) en mesurant 7 paramètres à 4 niveaux de la chaîne trophique et à moyen terme (8 à 20 jours) en mesurant 6 paramètres à 3 niveaux de la chaîne trophique.

Enfin, les effets toxicologiques spéciaux et/ou prolongés ont été étudiés, entre autres la cytotoxicité, la mutagénicité, la bioaccumulation des substances toxiques et le maintien de la toxicité après la biodégradation.

Résumer ici tous les résultats obtenus aurait été très long à cause de leur abondance et de leur diversité. On a préféré plutôt présenter les grandes tendances observées.

De manière générale, les eaux des sites A, D et D' se sont révélées plus nocives que celles des sites B et C.

Leur nocivité était plus reliée à des facteurs inorganiques qu'à des facteurs bactériologiques, organiques ou physico-chimiques. Leurs teneurs globales en ammoniac, en cyanures, en cadmium et en fer étaient respectivement 38400, 1846, 600 et 364 fois supérieures aux normes, le compte total de *Pseudomonas aeruginosa* et de streptocoques fécaux 2708 et 546 fois, les phénols et les huiles 940 et 365 fois et, enfin, la DCO et la DBO étaient 339 et 197 fois supérieures aux normes.

Ces eaux nocives, hormis celles de D, avaient un compte élevé ($4 \text{ à } 114 \times 10^5/100 \text{ mL}$) en bactéries hétérotrophes psychrophiles favorisant la biodégradation.

La toxicité de ces eaux, sauf celle du site C, s'est avérée létale; elle équivalait à respectivement 53, 25, 12 et 4 unités toxiques létales en A, D', D et B.

Après dilution, elle devenait sous-létale et présentait les grandes variations suivantes (i) A moyen terme, la toxicité sous-létale était plus grande qu'à court terme (moyenne de 385 unités toxiques à moyen terme et 20 unités toxiques à court terme pour différents tests aux 5 sites). (ii) Au site D, elle était plus

grande qu'aux sites A, B et D' et dans les sites précédents elle était plus grande qu'au site C (1436, 216, 139, 123 et 9 unités toxiques sous-létales obtenues lors de 5 tests à moyen terme). (iii) Les algues sont plus sensibles que les poissons (moyennes respectives de 437 et 175 unités toxiques sous-létales à moyen terme pour les 5 sites).

Les substances toxiques étaient bioaccumulables, les eaux étaient encore toxiques après des tests de biodégradation (31 jours) et les substances toxiques affectaient fondamentalement les cellules; ces trois phénomènes (qui occasionnaient respectivement 94, 17 et 7 unités sous-létales) s'observaient surtout pour les eaux des sites D, D' et A (43, 40 et 29 unités toxiques sous-létales par rapport à 5 et 1 pour les sites B et C).

Des effets mutagéniques n'ont été décelés qu'avec les eaux du site B.

L'ensemble de l'étude montre que la méthodologie adoptée apporte à la fois une diversification des observations et une maximisation des informations pour des examens écotoxicologiques intégrés des rejets d'eaux de dépotoirs. Elle se réalise dans un délai assez court afin de réduire les effets de la biodégradation et sa dimension exhaustive évite des limitations par étape (celles-ci n'auraient pas pu, par exemple, déceler le potentiel mutagénique du site B).

Axée vers les impacts ponctuels, régionaux et généraux successivement pour un rejet aquatique, la méthodologie étudiée précise non seulement les contaminants chimiques et les agents microbiologiques pathogènes présents dans ce rejet mais aussi sa toxicité à court et moyen terme ainsi que sa toxicité insidieuse à long terme. Le regroupement et l'intégration de ces opérations peut se faire selon une grille d'évaluation que nous présentons à la fin des conclusions.

ABSTRACT

During the winter of 1982, water from 4 dumps in Quebec was sampled at 5 sites, A, B, C, D and D'. These dumps sites contained urban-industrial, domestic, agricultural and mixed wastes respectively. In the last instance, samples were taken in a lagoon (site D) and at the ground dump interface (site D').

An ecotoxicological analysis of this water was made.

First, the sites themselves were examined and the chemical content of the waters at the 5 sites was analyzed (64 parameters: 23 inorganic, 29 organic and 12 physicochemical), their bacteriological properties (10 parameters) and lethal toxicological properties (96 hour LC50 test).

Next, the spread of water in the regional environment was studied and, within this framework, its sublethal toxicity defined in the short term (less than 96 hours) by measuring 7 parameters at 4 levels of the trophic chain and medium term (8 to 20 days) by measuring 6 parameters at 3 levels of the trophic chain.

Finally, special and/or prolonged toxicological effects were considered, including cytotoxicity, mutagenicity and bioaccumulation of toxic substances as well as their continuance after biodegradation.

It would take too long to summarize here all the results obtained, because of their large quantity and diversity. We have chosen instead to present the main trends observed.

Generally speaking, the water at sites A, D and D' proved more toxic than that at sites B and C.

Their toxicity was related more to inorganic factors (particularly total ammonia, cyanide, cadmium and iron with concentrations respectively 38400, 1846, 600 and 364 higher than standards). The bacteriological factors mainly *Pseudomonas aeruginosa* and fecal streptococci had total concentrations of respectively 2708 and 546 times higher than standards. Organic factors including phenols and oils were 940 and 365 times higher than standards and physicochemical factors COD and BOD were 339 and 197 times higher than standards.

These toxic waters, except that at D, contained high counts (4 to 114×10^5 /100 mL) of psychrophilic heterotrophic bacteria favourable for biodegradation.

The toxicity of this water proved lethal except at C (equalling 53, 25, 12 and 4 units of lethal toxicity at A, D', D and B respectively).

With dilution, it became sublethal and displayed the following variations. (i) In medium term the sublethal toxicity was higher than in the short term (an average of 385 toxic units in medium term and 20 toxic units in the short term for various tests at the 5 sites). (ii) At site D, it was higher than in sites A, B and D' and in the foregoing, it was higher than at site C (1436, 216, 139, 123 and 9 sublethal toxic units were obtained in 5 medium term tests. (iii) Algae are more sensitive than fish (averages of 437 and 175 sublethal toxic units respectively in medium term for the 5 sites).

The toxic elements were bioaccumulable, waters were still toxic after tests for biodegradation (31 days) and these toxic elements affected cells in a fundamental way; these three phenomena (which led to 94, 17 and 7 sublethal toxic units respectively) were observed mostly in the water at sites D, D' and A in particular (43, 40 and 29 sublethal toxic units in comparison to 5 and 1 for sites B and C).

Mutagenic effects were detected in the water at site B only.

The overall study shows that the methodological approach used provides both diversification and maximization of information for integrated ecotoxicological tests of dumpsite waters. This process was completed within a fairly short time span in order to reduce biodegradation, and the exhaustive nature of the study avoided the limitations of a step-by-step approach (which would not have revealed the mutagenic potential of site B, for example).

Oriented towards the successive local, regional and general impacts of the proposed methodology has precisely determined not only the chemical contaminants and pathological microorganisms present in an effluent but also its short and mid-term toxicity as well as its insidious long term toxicological effect. The grouping and integration of these operations can be made according to an evaluation schedule summarized in the conclusion.

EQUIPE DE TRAVAIL

- Coordinateur** : R. Van Coillie, Ph.D.
 Directeur des services biologiques
 Eco-Recherches Inc.
 121 boulevard Hymus,
 Pointe Claire, Québec.
 H9R 1E6
- Délégué scientifique** : N. Bermingham, biologiste
 Directeur des laboratoires,
 Service de Protection de l'Environnement (SPE)
 Région du Québec
 Environnement Canada
 1001 Place Pierre Dupuy,
 Longueuil, Québec.
 J4K 1A1
- Gestionnaire de dotation scientifique** : J. Lacelle
 Ministère des Approvisionnements et Services
 Région du Québec
 800 chemin du Golf,
 Ile des Soeurs, Montréal, Québec.
 H3E 1G9
- Echantillonnage**
- Responsables** : N. Bermingham, biologiste
 Directeur des laboratoires, SPE-Québec
 Environnement Canada
- : Y. Laberge, chimiste
 Directeur des services analytiques
 Eco-Recherches Inc.
- Participants** : E. Fedida, ingénieur
 SPE-Québec, Environnement Canada
- : D. Michaud, technicien
 SPE-Québec, Environnement Canada
- : R. Lafond, technicien
 SPE-Québec, Environnement Canada
- Consultation** : G. Girouard, ingénieur
 SPE-Québec, Environnement Canada
- : J.P. Plamondon, ingénieur
 Environnement Québec

Analyses chimiques (Eco-Recherches Inc.)

Responsables : Y. Laberge, chimiste
Directeur des services analytiques

: L. Foley, chimiste
Superviseur des sections eau et recherche

Participants : L. Dehelean, technicienne

: R. Goulet, chimiste

: G. Martinez, technicienne

: S. Milot, technicien

: A. Phadnis, chimiste

: L. Plouffe, technicienne

: G. Trudeau-Carrier, chimiste

Analyses et tests biologiques

- Caractérisation microbiologique et bioessais avec bactérie
(SPE-Québec, Environnement Canada)
- Responsable : C. Blaise, biologiste
- Participant : R. Legault, technicien
- Bioessais avec algues (Institut National de la Recherche Scientifique,
INRS-Eau, Université du Québec)
- Responsable : P. Couture, D.Sc., professeur
- Participants : M. Bordeleau, technicienne
- : G. Guay-Carreau, technicienne
- : N. Methot, étudiante
- : B. Veilleux, technicien
- Bioessais avec protozoaires : D. Dive, D.Sc.
Institut National de la Santé et de la
Recherche Médicale,
Laboratoire de Lille, France

• Bioessais avec cultures cellulaires (Université du Québec à Montréal)

Responsable : F. Denizeau, Ph.D., professeur

Participant : M. Marion, biochimiste

• Bioessais de bioaccumulation avec algues (SPE-Québec, Environnement Canada)

Responsable : C. Blaise, biologiste

Participants : P. Chevalier, stagiaire

: R. Legault, technicien

• Bioessais de mutagénicité : J. Bell, biologiste
Laboratoire SPE-Nord et Ouest
Environnement Canada
Edmonton, Alberta

• Bioessais de biodégradabilité (SPE-Québec, Environnement Canada)

Responsable : N. Bermingham, biologiste

Participants : C. Blaise, biologiste

: R. Legault, technicien

: R. Vezeau, chimiste

• Bioessais avec daphnies : A. Beckett, biologiste
Laboratoire SPE-Nord et Ouest
Environnement Canada
Edmonton, Alberta

• Bioessais avec poissons (Eco-Recherches Inc.)

Responsables : R. Van Coillie, Ph.D.
Directeur des services biologiques

: D. Fraser, biologiste
Superviseur de la section écologie

: C. Thellen, biologiste
Superviseur de la section toxicologie

Participants : P. Benoit, technicien
: R. Boutin, technicien
: R. Goulet, chimiste
: Y. Hamelin, technicien
: L. McLaughlin, biologiste
: K. Roy, biologiste
: Y. Roy, biologiste

TABLE DES MATIERES

	<u>PAGE</u>
EQUIPE DE TRAVAIL	i
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES TABLEAUX	vii
1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS	1
2. ECHANTILLONNAGE	4
3. ANALYSES DE PREMIER NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE	7
3.a Caractéristiques physico-chimiques	8
3.a.1 Paramètres généraux et inorganiques	8
3.a.2 Paramètres et contaminants organiques	13
3.a.3 Radioactivité	17
3.a.4 Synopsis chimique	18
3.b Caractéristiques microbiologiques	21
3.b.1 Etude générale	21
3.b.2 Etude spéciale	24
3.b.3 Synopsis microbiologique	25
3.c Toxicité létale	25
4. ANALYSES DE SECOND NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE	27
4.a Possibilités de déséquilibre physico-chimique dans le milieu récepteur	28
4.b Action microbiologique et demande en oxygène	29
4.c Toxicité sous-létale à court terme	32
4.d Toxicité sous-létale à moyen terme	42

TABLE DES MATIERES (suite)

	<u>PAGE</u>
5. ANALYSES DE TROISIEME NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE	51
5.a Cytotoxicité	52
5.b Mutagénicité	54
5.c Bioaccumulation de la toxicité	54
5.d Biodégradabilité de la toxicité	57
6. INTEGRATION	65
7. CONCLUSIONS	89
8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	99
 ANNEXE 1 - Modalités de préservation des échantillons pour les paramètres physico-chimiques	 2 pages
 ANNEXE 2 - Résultats bruts pour les caractéristiques physico-chimiques générales et inorganiques des eaux des cinq sites	 1 page
 ANNEXE 3 - Résultats bruts pour les contaminants organiques des eaux des cinq sites	 1 page

TABLE DES MATIÈRES (suite)

	<u>PAGE</u>
ANNEXE 4 - Résultats bruts pour les hydrocarbures volatils des eaux des cinq sites	1 page
ANNEXE 5 - Résultats bruts pour la radioactivité des eaux des cinq sites	1 page
ANNEXE 6 - Analyses et tests faits dans divers champs en vue de la caractérisation écotoxicologique des eaux des cinq sites (C. Blaise)	44 pages
ANNEXE 7 - Tests réalisés avec des algues en vue de la caractérisation écotoxicologique des eaux des cinq sites (P. Couture)	26 pages
ANNEXE 8 - Tests faits avec des cultures cellulaires en vue de la caractérisation écotoxicologique des eaux des cinq sites (F. Denizeau)	12 pages
	88 pages

LISTE DES TABLEAUX

	<u>PAGE</u>
Tableau 1 - Caractérisation écotoxicologique intégrée pour des rejets aquatiques	3
Tableau 2 - Qualité physico-chimique générale et inorganique des eaux des cinq sites	9
Tableau 3 - Paramètres et contaminants organiques des eaux des cinq sites	14
Tableau 4 - qualité et contaminations bactériennes des eaux des cinq sites	23
Tableau 5 - Potentiel létal des eaux des cinq sites	26
Tableau 6 - Demande en oxygène dans les eaux des cinq sites	31
Tableau 7 - Potentiel sous-létal à court terme dans les eaux des cinq sites	35
Tableau 8 - Potentiel sous-létal à moyen terme dans les eaux des cinq sites	45
Tableau 9 - Potentiel cytotoxique des eaux des cinq sites	53
Tableau 10 - Bioaccumulation de la toxicité des eaux des cinq sites .	56
Tableau 11 - Biodégradabilité de la toxicité des eaux des cinq sites.	60
Tableau 12 - Intégration des données	66
Tableau 13 - Méthodologie proposée pour une étude écotoxicologique intégrée des rejets aquatiques	84
Tableau 14 - Grille d'évaluation écotoxicologique pour des rejets aquatiques	98

1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS

La production et la consommation de biens s'étant considérablement accrues depuis quelques décennies, la gestion des déchets devient un problème majeur. Différentes approches sont proposées pour le résoudre: recyclage partiel où on emploie de plus en plus des procédés biotechnologiques, enfouissement, amalyation de produits inorganiques dans des matrices cimentueuses (par exemple, processus "Stablex"), incinération et autres. Parmi ces approches dont les avantages, limites et inconvénients sont débattus dans diverses audiences scientifiques et gouvernementales, l'enfouissement en dépotoirs est généralement très utilisé.

L'enfouissement concentré de rejets à des sites particuliers peut occasionner une contamination toxique locale de l'environnement à long terme. Les exemples tristement célèbres ne manquent pas à ce sujet: déserts écologiques en Ruhr allemande, dépotoirs voisins du canal Love dans la région de Niagara (USA), dépotoir passé de Mercier, etc... Face à cela, il y a lieu d'évaluer régulièrement l'impact écotoxicologique des sites d'enfouissement, entre autres au niveau des eaux qui en sont issues et qui peuvent ultérieurement contaminer les nappes phréatiques et bassins environnants.

Les méthodes d'évaluation à cette fin s'avèrent incomplètes. De fait, on se contente souvent d'effectuer des analyses plus ou moins périodiques de quelques paramètres physico-chimiques pour les eaux qui proviennent des sites d'enfouissement. Se limiter seulement à l'interprétation physico-chimique de la qualité des eaux des dépotoirs risque d'entraîner une évaluation insuffisante de leur danger écotoxicologique. En effet, on ne tient pas compte alors des synergismes et antagonismes d'action toxique entre les composés présents, des possibilités d'activation et désactivation biologique de ceux-ci, des sensibilités différentes aux niveaux écologiques affectés et de la spéciation toxicologique de certains produits. Des bioanalyses représentatives du potentiel toxicologique doivent donc être combinées aux relevés physico-chimiques.

L'objectif principal de la présente étude consiste dès lors à proposer une démarche intégrée recherchant, au moyen de bioessais couplés à des analyses physico-chimiques et bactériologiques, une caractérisation écotoxicologique plus pertinente pour les eaux provenant des sites d'enfouissement et, plus généralement, pour les rejets aquatiques. Cette démarche est expérimentée pour quatre dépotoirs d'enfouissement au Québec et désire répondre ainsi concomitamment à un objectif local, à savoir fournir aux autorités provinciales un aperçu écotoxicologique des eaux des quatre dépotoirs après un échantillonnage.

La démarche globale proposée est articulée selon trois niveaux de protection environnementale, tel que schématisé dans le tableau 1. Ces trois niveaux correspondent à des différences d'intensité entre les niveaux de toxicité, les types de dérèglement, l'étendue des impacts et les types d'intervention à effectuer.

TABLEAU 1
CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE INTEGREE POUR DES REJETS AQUATIQUES

<u>Niveaux de protection environnementale</u>	<u>Niveaux de toxicité</u>	<u>Types de dérèglement</u>	<u>Etendues d'impact</u>	<u>Types d'interaction</u>
Primaire	Létal	. Concentrations excessives de contaminants et/ou d'agents pathogènes . Toxicité létale flagrante à court terme	Local	Traitement grossier des rejets
Secondaire	Sous-létal	. Déséquilibre dans les paramètres physico-chimiques et dans la diversité biologique . Toxicité sous-létale à court et à moyen terme	Régional	Traitement en fonction de la capacité assimilatrice du milieu récepteur (sol, eau)
Tertiaire	Mécanismes cellulaires et environnementaux	. Bioaccumulation des composés toxiques persistants . Cytoxicité . Génotoxicité (Mutagenicité, carcinogénicité, tératogénicité) . Biodégradabilité et toxicité après celle-ci	Général	Traitement complet à la source

2. ECHANTILLONNAGE

Le ministère-client du présent contrat ayant demandé que la localisation des quatre dépotoirs échantillonnés soit confidentielle dans ce rapport, il a été convenu que ceux-ci seraient dénommés sites A, B, C et D.

<u>Appellation</u>	<u>Localisation</u>	<u>Type de rejet</u>	<u>Date</u>
Site A	(Confidentielle)	Urbain et industriel	22 février 1982 (10 à 12 heures)
Site B	(Confidentielle)	Domestique	22 février 1982 (14 à 16 heures)
Site C	(Confidentielle)	Agricole	23 février 1982 (10 à 14 heures)
Site D	(Confidentielle)	Mixte	23 février 1982 (15 à 17 heures)
Puits ou site D' aussi appelé E	(Confidentielle)	Mixte	24 février 1982 (10 à 16 heures)

Au premier endroit, le dépotoir était quasiment rempli de déchets et il y avait une station de pompage au fond de sa partie profonde non comblée de déchets. L'eau de lessivage s'accumulait dès lors à cette station; on prit les échantillons du site A à ce lieu. Par ailleurs, aux dépotoirs B, C et D, l'eau fut prélevée sous les glaces dans des lagunes de rétention.

Etant donné que le dépotoir D renfermait des puits (profondeur: 8 m) donnant accès à l'interface sol-dépotoir, on échantillonna à un de ces puits (site D' également dénommé E) en vue de pouvoir comparer l'eau de cette interface avec celle de la lagune du dépotoir.

Tous les prélèvements furent faits avec une pompe submersible en plastique poussant l'eau à 15 litres/minute dans un tuyau en téflon menant à des

contenants en verre de 70 litres ou à des bidons en polypropylène de 450 litres. On veilla à laver plusieurs fois la pompe et le tuyau entre les échantillonnages. Signalons aussi qu'on utilisa un système à vide pour aspirer l'eau du puits au site D'. Des triplicata ont été pris à chaque site de manière successive.

Quelques mesures physico-chimiques ont été effectuées *in situ* avec des aliquots pris dans chaque triplicata après agitation. Elles ont fourni les informations stipulées ci-après.

	<u>Site A</u>	<u>Site B</u>	<u>Site C</u>	<u>Site D</u>	<u>Site D' (ou E)</u>
Température aquatique	9 ⁰ C	1 ⁰ C	1 ⁰ C	1 ⁰ C	10 ⁰ C
pH	7,2	7,1	7,3	6,9	6,7
Salinité*	0,5%	0,5%	0,25%	0,1%	0,2%
Oxygène dissous**	0 mg/L	0 mg/L	0 mg/L	0 mg/L	0 mg/L

* Salinité déterminée avec un salinimètre YSI, modèle 33.

** Oxygène dosé par le procédé iodométrique de Winkler avec azide (APHA et al, 1980).

N.B.: Les données précitées sont des moyennes pour les triplicata; leur coefficient de variation n'excède pas 15%.

Immédiatement après leur prélèvement, les échantillons furent subdivisés *in situ* après une brève agitation. En vue des analyses physico-chimiques, on répartit des volumes appropriés dans 11 différents contenants en polypropylène ou en verre/échantillon, lesquels se trouvaient dans des glacières à 4⁰C et renfermaient ou non des préservatifs recommandés; les modalités adoptées à cette fin et les délais maximaux tolérés avant les analyses sont résumés à l'annexe 1 (APHA et al, 1980; Environnement Québec, 1980;

Environnement Canada, 1981; Vezeau, 1982). Pour les examens bactériologiques, on transvasa 10 litres/échantillon dans des bouteilles de verre à 4°C préalablement stérilisées. Le reste de chaque échantillon fut amené aux laboratoires d'Environnement Canada SPE à Longueuil où il fut placé dans une chambre à 4°C. Sa distribution aux laboratoires effectuant les différents bioessais eut généralement lieu dans les 24 à 48 heures suivantes dans des glacières pour évaluer sa toxicité létale et sous-létale; selon le degré de toxicité, cette évaluation exigeait de 50 à 250 litres/échantillon pour les poissons et de 2,5 à 12,5 litres /échantillon pour les autres indicateurs biologiques.

3. ANALYSES DE PREMIER NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE

A ce niveau, les eaux des cinq sites ont été examinées pour leur qualité comme telle, laquelle a été précisée aux points de vue physico-chimique, microbiologique et toxicologique létale.

3.a Caractéristiques physico-chimiques

3.a.1 Paramètres généraux et inorganiques

Les déterminations analytiques pour ces paramètres furent faites selon des méthodes courantes préconisées et décrites par Environnement Canada (1979) et, pour le mercure, par Environnement Québec (1979). Elles fournirent les résultats bruts exposés à l'annexe 2.

Les valeurs obtenues pour les triplicata des échantillons sont relativement semblables par site et par paramètre si l'on tient compte du fait que, pour chaque triplicata, les échantillons ne résultent pas d'une subdivision d'une seule prise mais proviennent de trois prises successives. Dans ces conditions, on a calculé et retenu les moyennes de ces valeurs des triplicata pour la suite de l'exposé.

Il y a lieu de comparer ces moyennes avec les indications normatives pour les eaux de lixiviation d'abord (Environnement Québec, 1981) et ensuite avec celles relatives à la vie aquatique (Environnement Canada, 1980); le tableau 2 présente cette comparaison.

TABLEAU 2
QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE GENERALE ET INORGANIQUE
DES EAUX DES CINQ SITES

Paramètres ou contaminants	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'* ou E	Eaux normales de lixi- viation ¹	Eaux propices à la vie aquatique ²
pH**	7,5	7,1	7,4	7,1	7,0	-	6,5-8,5
Alcalinité (mg CaCO ₃ /L)	3053	515	645	1820	2717	-	< 500
Cyanures (µg/L)	8200	180	377	183	290	100	< 5
Sulfures (µg/L)	< 16	42	< 10	680	827	200	< 20
Ammoniac (mg/L)	386	34	8	94	246	-	< 0,02
Nitrites (mg/L)	0,23	0,25	1,58	0,39	0,49	-	< 1
Nitrates (mg/L)	14,5	1,8	7,3	6,9	5,2	-	< 5
Carbone inorga- nique (mg/L)	863	116	179	302	593	-	< 500
Conductivité (µS/cm 25 ⁰ C)	8867	2133	4400	4100	8933	-	< 1500
DCO*** (mg O ₂ /L)	1086	404	94	1680	735	100	< 10
Dureté (mg/L)	385	327	470	747	545	-	< 120
Oxygène dis- soutenu****(mg/L)	0	0	0	0	0	-	> 4,0
Phosphore (mg/L)	2,21	0,03	0,09	0,03	1,61	-	< 0,1
Solides en sus- pension (mg/L)	83	51	8	61	742	-	< 25
Solides totaux (mg/L)	4143	1420	3363	3353	6383	-	< 1000
Mercure (µg/L)	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	1	< 0,1
Argent (µg/L)	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	-	< 10
Arsenic (µg/L)	< 5	< 5	< 5	10	20	-	< 50
Barium (mg/L)	1,0	< 0,3	< 0,3	0,3	0,9	-	< 1
Cadmium (µg/L)	20	14	13	26	47	100	< 0,2

TABLEAU 2 (suite)

Paramètres ou contaminants	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'* ou E	Eaux normales de lixi- viation ¹	Eaux propices à la vie aquatique ²
Calcium (mg/L)	64	77	106	154	103	-	< 100
Chrome (mg/L)	0,09	0,04	0,04	0,05	0,22	0,50	< 0,04
Cuivre (µg/L)	< 20	< 20	< 20	< 20	173	100	< 5
Fer (mg/L)	7,0	15,1	0,4	13,5	73,5	17	< 0,3
Magnésium (mg/L)	55	33	50	88	70	-	< 100
Manganèse (mg/L)	0,2	2,7	0,7	3,3	0,9	-	< 0,2
Nickel (µg/L)	100	< 40	< 40	< 40	160	1000	< 25
Plomb (mg/L)	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,3	1,0	< 0,03
Selenium (µg/L)	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	-	< 5
Zinc (mg/L)	0,13	0,04	0,04	0,03	1,16	1,0	< 0,03

* Moyennes des valeurs brutes des triplicata/site (voir annexe 2 pour ces valeurs).

** Les pH moyens déterminés aux laboratoires sont quelque peu plus élevés que ceux mesurés *in situ* (voir plus haut section 2).

*** DCO : Demande Chimique en Oxygène.

**** Le dosage de l'oxygène a été débuté *in situ* (voir plus haut section 2).

¹ Environnement Québec (1981)

² Environnement Canada (1980)

Il ressort que certains produits étaient en teneurs excessives dans les eaux des sites, tel que résumé ci-après.

Sites	Produits inorganiques	Degrés d'excès par rapport aux eaux normales <u>de lixiviation</u>	Degrés d'excès par rapport aux eaux propices <u>à la vie aquatique</u>
A	Ammoniac (386 mg/L)	-	19300X
	Cyanures (8200 µg/L)	82X	1640X
	Cadmium (20 µg/L)	<	100X
	Fer (7 mg/L)	<	23X
	Nickel (100 µg/L)	<	4X
	Zinc (130 µg/L)	<	4X
B	Ammoniac (34 mg/L)	-	1700X
	Cyanures (180 µg/L)	1,8X	36X
	Cadmium (14 µg/L)	<	70X
	Fer (15 mg/L)	<	50X
	Manganèse (2700 µg/L)	-	13X
C	Ammoniac (8 mg/L)	-	400X
	Cyanures (377 µg/L)	3,7X	75X
	Cadmium (13 µg/L)	-	65X
	Manganèse (700 µg/L)	-	3X
D	Ammoniac (94 mg/L)	-	4700X
	Sulfures (680 µg/L)	3,4X	34X
	Cyanures (183 µg/L)	1,8X	37X
	Cadmium (26 µg/L)	<	130X
	Fer (13,5 mg/L)	<	45X
	Manganèse (3300 µg/L)	-	16X

D'	Ammoniac (246 mg/L)	-	12300X
ou	Fer (73,5 mg/L)	4,3X	245X
E	Sulfures (827 µg/L)	4,1X	41X
	Cyanures (290 µg/L)	2,9X	58X
	Cuivre (173 µg/L)	1,7X	35X
	Cadmium (47 µg/L)	<	235X
	Zinc (1160 µg/L)	<	39X
	Plomb (300 µg/L)	<	10X
	Nickel (160 µg/L)	<	6X
	Chrome (220 µg/L)	<	5X
	Manganèse (900 µg/L)	-	4X

Par rapport aux eaux naturelles (Environnement Canada, 1980), celles des cinq sites présentaient généralement aussi des valeurs élevées pour les paramètres suivants: alcalinité, nitrates, conductivité, DCO (Demande Chimique en Oxygène), dureté, phosphore, solides en suspension et totaux. Par contre, la teneur en oxygène y était, quant à elle, quasiment nulle: ceci peut entre autres être relié aux DCO et/ou DBO (voir 3.a.2) élevées.

Paramètres physico-chimiques	Degrés d'excès par rapport aux eaux naturelles				
	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E
DCO*	108,6X	40,4X	9,4X	168,0X	73,5X
Solides en suspension	3,3X	2,0X	<	2,4X	29,7X
Solides totaux	4,1X	1,4X	3,4X	3,4X	6,4X
Conductivité	5,9X	1,4X	2,9X	2,7X	6,0X
Dureté	3,2X	2,7X	3,9X	6,2X	4,5X
Alcalinité	6,0X	=	1,3X	3,6X	5,4X
Nitrates(+Nitrites)	3,9X	<	1,5X(+1,6X)	1,4X	=
Phosphore	22,1X	<	=	<	16,1X
Carbone inorganique	2,0X	-	-	-	-
Pénurie en oxygène	> 4X	> 4X	> 4X	> 4X	> 4X

* Demande Chimique en Oxygène

3.a.2 Paramètres et contaminants organiques

La majorité des paramètres et contaminants a été analysée avec des techniques recommandées par Environnement Canada (1979). Pour les dosages des triazines (atrazine et cyanazine) et des organophosphates (diméthoate, azinphosméthyl et phosmet), on appliqua des méthodes de l'EPA (1979). Le benzo-alpha-pyrène fut déterminé par chromatographie liquide à haute performance (Federal Register, 1979a). Les hydrocarbures volatils ont été dosés par chromatographie gazeuse couplée avec spectrométrie de masse (Federal Register, 1979b) par rapport à des composés de référence "EPA purgeables Supelco" à 100 µg/L; compte tenu du coût élevé de ces dernières analyses, on s'est limité à un échantillon par site, à savoir les échantillons A₃, B₃, C₃, D₃ et D'₁.

Les résultats bruts des déterminations analytiques sont indiqués à l'annexe 2 pour les paramètres généraux organiques, à l'annexe 3 pour les PCB (Poly-Chloro-Biphényles) et les pesticides et à l'annexe 4 pour les hydrocarbures volatils. Les valeurs de chaque paramètre ou contaminant organique sont regroupées par site au tableau 3 où on les met en parallèle avec des indications normatives mentionnées par Environnement Canada (1980) et Environnement Québec (1981).

* Pour les paramètres généraux de nature organique comme pour ceux de nature inorganique (voir 3.a.1), les résultats s'avèrent assez voisins au sein de chaque triplicata si l'on considère que les échantillons ont été pris de manière successive pour chaque triplicata.

TABLEAU 3
PARAMETRES ET CONTAMINANTS ORGANIQUES DES EAUX DES CINQ SITES

Paramètres ou contaminants	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'* ou E	Eaux normales de lixi- viation ¹	Eaux propices à la vie aquatique ²
Carbone orga- nique (mg/L)	282	184	39	709	175	-	< 30
DBO ₅ ** (mg O ₂ /L)	155	283	6	1503	42	40	< 10
Huiles & graisses hydrocarbures (mg/L)	47	2	18	3	3	15	< 0,2
Phénols (µg/L)	46	88	16	752	38	20	< 1
Poly-Chloro- Biphényles (µg/L)	0,4	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,01
Pesticides organochlorés (µg/L)							
-Lindane	< 0,02	-	-	-	-	-	< 0,01
-Méthoxychlore	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	-	< 0,03
-Toxaphène	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	-	< 0,05
-Endrine	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	-	< 0,02
Pesticides chlorophénoxy- acides (µg/L)							
- 2,4D	< 3	< 1	< 2	< 2	< 2	-	< 1
- 2,4,5T	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	-	-
- 2,4,5TP	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	-	-
Pesticides avec triazine (µg/L)							
-Atrazine	< 0,5	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,5	-	-
-Cyanazine	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	< 0,4	-	-
Pesticides orga- nophosphates (µg/L)							
-Diméthoate	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 2	< 2	-	-
-Azinphosméthyl	< 3	< 3	< 3	< 6	< 3	-	-
-Phosmet	< 4	< 4	< 4	< 5	< 4	-	-
Pesticides carbamates (µg/L)							
-Carbofurane	< 20	< 20	< 20	< 20	< 20	-	-
-Carbaryl	-	-	-	-	-	-	-

TABLEAU 3 (suite)

Paramètres ou contaminants	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'*	Eaux normales de lixi- viation ¹	Eaux propices à la vie aquatique ²
	ou E						
Benzo-alpha- pyrène (µg/L)	< 1	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	-	-
Hydrocarbures volatils aliphatiques (µg/L)							
-Dichlorométhane	-	-	80	92	< 10	-	-
-Trichlorométhane (Chloroforme)	-	-	18	-	-	-	-
-Trichloéthylène	-	-	-	< 10	-	-	-
Hydrocarbures volatils aromatiques (µg/L)							
-Benzène	-	-	-	13	11	-	-
-Chlorobenzène	-	-	-	-	105	-	-
-Dichlorobenzène	-	-	-	-	< 10	-	-
-Méthylbenzène (Toluène)	-	-	-	155	-	-	-
-Diméthylbenzène (Xylène)	-	-	-	< 10	-	-	-
-Ethylbenzène	-	-	-	-	30	-	-
Hydrocarbures volatils non identifiables (µg/L)	150	-	-	-	75	-	-

* Moyennes des valeurs brutes des triplicata/site (voir annexes 2 et 3 pour ces valeurs) sauf, pour les pesticides carbamates et les hydrocarbures volatils pour lesquels il n'y eut qu'un échantillon analysé par site.

** DBO₅ : Demande Biochimique en Oxygène pour 5 jours.

¹ Environnement Québec (1981)

² Environnement Canada (1980)

Le tableau 3 indique que les teneurs étaient très élevées et/ou excessives pour quelques contaminants et/ou paramètres organiques dans les eaux des sites, comme le montre la rétrospective ci-dessous.

Sites	Contaminants ou paramètres organiques	Degrés d'excès par rapport aux eaux normales de lixiviation	Degrés d'excès par rapport aux eaux propices à la vie aquatique
A	Huiles & graisses (47 mg/L)	3,1X	235X
	Hydrocarbures volatils (150 µg/L)	-	-
	Phénols (46 µg/L)	2,3X	46X
	Poly-Chloro-Biphényles (0,4 µg/L)	-	40X
	DBO ₅ (155 mg O ₂ /L)	3,9X	15,5X
	Carbone organique (282 mg/L)	-	9,4X
B	Phénols (88 µg/L)	4,4X	88X
	DBO ₅ (283 mg O ₂ /L)	7,1X	28,3X
	Huiles et graisses (2 mg/L)	-	10X
	Carbone organique (184 mg/L)	-	6,1X
C	Huiles & graisses (18 mg/L)	1,2X	90X
	Hydrocarbures volatils (98 µg/L)	-	-
	Phénols (16 µg/L)	<	16X
D	Phénols (752 µg/L)	37,6X	752X
	Hydrocarbures volatils (260 µg/L)	-	-
	DBO ₅ (1503 mg O ₂ /L)	37,6X	150X
	Carbone organique (709 mg/L)	-	23,6X
	Huiles et graisses (3 mg/L)	-	15X
D'	Hydrocarbures	-	-
ou	volatils (221 µg/L)	-	-
E	Phénols (38 µg/L)	1,9X	38X
	Huiles et graisses (3 mg/L)	-	15 X
	DBO ₅ (42 mg O ₂ /L)	≈	4,2X
	Carbone organique (175 mg/L)	-	5,8X

3.a.3 Radioactivité

Les échantillons ont été dissous (1:2) dans l'aquasol-2 et ensuite introduits dans un compteur à scintillation LKB pour les comptages des radiations α et β . Les résultats bruts de ces comptages exprimés en cpm (coups par minute) figurent à l'annexe 5.

Ces résultats ont été corrigés en fonction du bruit de fond évalué avec l'aquasol et, par la suite, transformés en dpm (désintégrations par minute) en fonction du "quenching" (Bell et Haynes, 1958); on obtint alors les valeurs suivantes pour la radioactivité.

	<u>Eaux des sites</u>	<u>Eaux hors-site</u>
dpm	0,9 à 1,3 /mL	1,1 /mL
p Curie*	24 à 35 /mL	30 /mL
mBq*	0,9 à 1,3 / L	1,1 / L

* 37×10^{-3} dpm = 1 p Curie = 37 m Becquerel, soit 37 mBq

Selon Environnement Canada (1980), les concentrations radioactives ne devraient pas dépasser une des indications normatives ci-dessous:

Tritium	: émetteur β	4.000.000 mBq/L
Cesium 137	: émetteur β	5.000 mBq/L
Strontium 90	: émetteur β	1.000 mBq/L
Iode 131	: émetteur β	1.000 mBq/L
Rayonnement β	global	185 mBq/L
Radium 226	: émetteur α	100 mBq/L
Rayonnement α	global	20 mBq/L

Nos valeurs étant très inférieures à ces indications normatives et la radioactivité des eaux des sites étant très voisine de celle des eaux naturelles, il n'y avait donc pas de radioactivité significative dans nos échantillons.

3.a.4 Synopsis chimique

A ce premier stade de caractérisation des eaux des 5 sites, il s'agissait de faire ressortir les concentrations excessives flagrantes de contaminants dans ces eaux.

Sites	Contaminants	Degrés d'excès flagrant (> 10X) par rapport aux eaux naturelles*
A	Ammoniac (386 mg/L)	19300X
	Cyanures (8200 µg/L)	1640X
	Huiles et graisses (47 mg/L)	235X
	Cadmium (20 µg/L)	100X
	Phénols (46 µg/L)	46X
	Poly-Chloro-Biphényles (0,4 µg/L)	40X
	Hydrocarbures volatils (150 µg/L)	
B	Ammoniac (34 mg/L)	1700X
	Phénols (88 µg/L)	88X
	Cadmium (14 µg/L)	70X
	Fer (15 mg/L)	50X
	Cyanures (180 µg/L)	36X
	Manganèse (2700 µg/L)	13X
C	Ammoniac (8 mg/L)	400X
	Huiles et graisses (18 mg/L)	90X
	Cyanures (377 µg/L)	75X
	Cadmium (13 µg/L)	65X
	Phénols (16 µg/L)	16X
	Hydrocarbures volatils (98 µg/L)	

D	Ammoniac	(94 mg/L)	4700X
	Phénols	(752 µg/L)	752X
	Cadmium	(26 µg/L)	130X
	Fer	(13,5 mg/L)	45X
	Cyanures	(183 µg/L)	37X
	Sulfures	(680 µg/L)	34X
	Manganèse	(3300 µg/L)	16X
	Hydrocarbures volatils	(260 µg/L)	
D' ou E	Ammoniac	(246 mg/L)	12300X
	Fer	(73,5 mg/L)	245X
	Cadmium	(47 µg/L)	235X
	Cyanures	(290 µg/L)	58X
	Sulfures	(827 µg/L)	41X
	Zinc	(1160 µg/L)	39X
	Phénols	(38 µg/L)	38X
	Cuivre	(173 µg/L)	35X
	Plomb	(300 µg/L)	10X
	Hydrocarbures volatils	(221 µg/L)	

* Indications normatives: voir Environnement Canada (1980).

De façon générale, les eaux des 5 sites contenaient les mêmes contaminants en teneurs excessives flagrantes. Bien que celles-ci diffèrent considérablement entre les 5 sites, on a cherché à estimer la gradation d'excès entre les contaminants communs pour ces eaux. A cette fin, on a calculé des teneurs moyennes inter-site ces produits:

Contaminants des eaux aux 5 sites	Teneurs moyennes dans les eaux aux 5 sites	Degrés moyens d'excès flagrant (> 10X) par rapport aux eaux naturelles
Ammoniac	154 mg/L	7700X
Cyanures	1846 µg/L	369X
Phénols	188 µg/L	188X
Cadmium	24 µg/L	120X
Huiles et graisses	15 mg/L	75X
Fer	22 mg/L	73X
Manganèse	1,5 mg/L	7,5X
Hydrocarbures volatils	146 µg/L	

Ces 8 produits représentaient donc les contaminants majeurs des eaux des 4 dépotoirs étudiés; parmi eux, l'ammoniac, les cyanures, les phénols et le cadmium étaient les plus flagrants en excès.

L'interface sol-dépotoir D' était affecté par les contaminants de surface qu'on retrouvait dans l'eau de lagune du site D. Si l'on compare les teneurs de ces produits en excès entre D' et D, on constate que la plupart d'entre eux étaient plus abondants dans l'eau de l'interface que dans celle de la lagune; seuls les phénols et le manganèse avaient des teneurs considérablement réduites en D'.

Contaminants	Teneurs dans l'eau de lagune D	Teneurs dans l'eau du puits D'	Différences D'/D
Fer	13,5 mg/L	73,5 mg/L	+ 444 %
Ammoniac	94 mg/L	246 mg/L	+ 162 %
Cadmium	26 µg/L	47 µg/L	+ 81 %
Cyanures	183 µg/L	290 µg/L	+ 58 %
Sulfures	680 µg/L	827 µg/L	+ 22 %
Hydrocarbures volatils	247 µg/L	210 µg/L	- 15 %
Manganèse	3300 µg/L	900 µg/L	- 73 %
Phénols	752 µg/L	38 µg/L	- 95 %

En résumé, les eaux des 5 sites étudiés avaient des concentrations excessives flagrantes en ammoniac, cyanures, phénols, cadmium, huiles et graisses, fer, sulfures, manganèse et hydrocarbures volatils, lesquelles différaient considérablement par site.

3.b Caractéristiques microbiologiques

3.b.1 Etude générale

En plus des polluants chimiques, des contaminations microbiologiques peuvent aussi s'avérer néfastes dans un rejet aquatique. Pour préciser cet aspect dans les eaux des cinq sites échantillonnés, des indicateurs bactériens généraux y ont été examinés selon des méthodes courantes (APHA et al, 1980). On a également

vérifié si ces eaux renfermaient quelques espèces particulières reconnues pour leur nocivité chez l'homme et/ou chez les poissons, soit *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. et *Aeromonas hydrophila*; à cette fin, on a adopté une méthode recommandée par Tennant et al (1975) pour les deux premières et celle décrite par Shotts et Rimler (1973) pour la dernière.

Les résultats bruts de ces analyses bactériologiques sont présentés à l'annexe 6 - tableau 8. Bien qu'ils varient dans les triplicata de chaque site à cause du prélèvement successif des 3 échantillons à chaque site, on les a regroupés en moyennes par triplicata comme ce fut le cas pour les résultats chimiques (voir plus haut 3.a); ceci permettait de situer des ordres de grandeur. Ces moyennes figurent au tableau 4 où elles sont mises en parallèle avec des indications normatives préconisées par Environnement Canada (1980).

L'examen du tableau 4 permet de déceler les indications ci-après.

- i) Les eaux des sites A, C et D' avaient une haute teneur en coliformes totaux.
- ii) Parmi ces derniers, les coliformes fécaux n'étaient en quantités élevées que dans les eaux du site C.
- iii) Les streptocoques fécaux se révélaient abondants dans les eaux aux sites A et D' et, à un moindre degré, aux sites C et ensuite B. Le rapport "Coliformes fécaux/Streptocoques fécaux se révélait très faible au site C (1,76), ce qui indique une pollution locale d'origine plus animale qu'humaine selon le critère ($\leq 4,4$) de Geldreich et Kenner (1969); il était encore plus faible aux autres sites.

TABLEAU 4
QUALITE ET CONTAMINATIONS BACTERIENNES DES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs ou espèces	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'* ou E	Eaux domestiques et/ou naturelles ¹
Coliformes totaux (n/100 mL)	223	13	397	< 10	353	< 10
Coliformes fécaux (n/100 mL)	< 10	< 10	83	< 10	< 10	< 1
Streptocoques fécaux (n/100 mL)	170	13	47	< 10	316	< 1
Bactéries hété- rotrophes (n/100 mL)	114 x 10 ⁵	3,6 x 10 ⁵	32 x 10 ⁵	< 1 x 10 ⁵	43 x 10 ⁵	-
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> (n/100 mL)	> 1600	37	666	5	400	0
<i>Salmonella</i> sp. (n/100 mL)	nd**	nd**	nd**	nd**	nd**	0
<i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i> (n/mL)	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	0

* Moyennes des valeurs brutes des triplicata/site (voir annexe 6, tableau 8 pour ces valeurs)

** nd : non détecté

¹ Environnement Canada (1980)

- iv) Les bactéries hétérotrophes s'avéraient nombreuses dans les eaux échantillonnées, particulièrement aux sites A, C et D' par ordre décroissant; en comparant leurs cultures à 20°C et à 35°C (voir annexe 6, tableau 8), on remarqua que ces bactéries hétérotrophes étaient surtout psychrophiles, c'est-à-dire spécialement adaptées à des basses températures (Stokes et Redmond, 1966).
- v) *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie pathogène reconnue (Santos Ferreira, 1977), se retrouvait en concentrations anormalement élevées dans les eaux des sites A et, à plus faible échelle, C et D'.
- vi) Par contre, la présence de *Salmonella* sp. et *Aeromonas hydrophila* ne semblait pas apparente dans les eaux des sites étudiés.

Bref, il y avait un excès de contaminations bactériennes et de bactéries hétérotrophes psychrophiles dans les eaux aux sites A, C et D' et, très secondairement, au site B; au site D, par contre, la qualité bactériologique aquatique apparaissait assez normale.

3.b.2 Etude spéciale

Etant donné que les eaux des sites A, C et D' se révélèrent très contaminées au point de vue bactériologique, une expérimentation complémentaire a été menée afin d'évaluer davantage leur pathogénicité bactérienne (voir annexe 6, section 5.2). Elle a permis d'isoler respectivement 32, 18 et 4 souches de *Proteus/Providencia* (bactéries pouvant provoquer des gastro-entérites ou des infections urinaires) dans les eaux des sites A, C et D'. Ces souches ont ensuite été testées pour leur sensibilité à huit antibiotiques communs; les résultats obtenus (voir annexe 6, tableau 9) indiquent qu'en se basant sur une résistance à au moins 3 antibiotiques, il appert que 100%, 28% et 25% des souches respectivement isolées des eaux des sites A, C et D' avaient une résistance plasmidique.

3.b.3 Synopsis microbiologique

Les analyses bactériologiques ont montré que les eaux des sites A, C et D' principalement renfermaient des contaminations bactériennes évidentes (entre autres, des streptocoques fécaux et *Pseudomonas aeruginosa*), des souches de *Proteus/ Providencia* résistantes aux antibiotiques (respectivement 100%, 28% et 25% des souches selon les sites précités) ainsi que des hautes teneurs en bactéries hétérotrophes psychrophiles.

3.c Toxicité létale

Les contaminations chimiques et bactériologiques des eaux des cinq sites causaient-elles une toxicité létale? Pour vérifier si c'est le cas, ces eaux ont été testées avec des truites arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) selon la méthodologie recommandée à cette fin par Environnement Canada (1980b). On fit d'abord des bioessais préliminaires de courte durée (24 à 48 heures) pour différencier les paliers de concentrations toxiques et non toxiques dans les échantillons en triplicata par site. Les paliers toxiques étant très voisins entre les triplicata par site, on regroupa ceux-ci en parts égales et on testa ensuite le mélange par site. L'expérimentation fut réalisée en conditions contrôlées de température ($15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), pH ($8,0 \pm 0,2$) et oxygène dissous ($8,7 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 0,6$).

Les résultats qu'on obtint sont exposés au tableau 5.

Celui-ci montre que le potentiel toxique létal des eaux était:

- très prononcé pour les sites A, D' et D (CL50 respectives: 2%, 4% et 8%)
- assez prononcé pour le site B (CL50: 25%)
- quasi-nul pour le site C.

TABLEAU 5
POTENTIEL LETAL DES EAUX DES CINQ SITES

Sites	Concentrations testées des eaux des sites	Mortalités après 96 heures pour <i>Salmo gairdneri</i>	CL50-96h*	UT ₁ **
A	10 %	100%		
	5,6%	100%		
	3,2%	100%		
	1,8%	40%		
	1,0%	0%		
			1,9%	52,6
B	50 %	100%		
	32 %	100%		
	24 %	40%		
	18 %	10%		
	10 %	0%		
			24,9%	4,0
C	100 %	0%	nd***	nd***
D	10 %	80%		
	5,6%	0%		
	3,2%	0%		
	1,8%	0%		
	1,0%	0%		
			8,3%	12,0
D' ou E	10 %	100%		
	5,6%	100%		
	3,2%	10%		
	1,8%	0%		
	1,0%	0%		
			4,0	25,0

* CL50-96h: Concentrations Létales pour 50% des individus *Salmo gairdneri* en 96 heures; elles ont été déterminées par calcul "Probit" (Stephan, 1971).

** UT₁: Unités Toxiques létales = 100% / CL50.

*** nd : non détecté.

4. ANALYSES DE SECOND NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE

Après avoir précisé les contaminations chimiques et microbiologiques des eaux des cinq sites et leur potentiel toxique létal, il importait de s'interroger sur leur impact dans les eaux des bassins récepteurs où elles se diluaient graduellement. On a tenté d'évaluer cet impact de diffusion aux points de vue physico-chimique, microbiologique et toxicologique. Suite à la dilution, les excès et effets néfastes pré-décrits pour les eaux des cinq sites étaient vraisemblablement destinés à diminuer et, dans ce contexte, leur toxicité létale évoluait sans doute progressivement vers le niveau sous-létal auquel une attention spéciale a été accordée dans notre démarche.

4.a Possibilités de déséquilibre physico-chimique dans le milieu récepteur

La flore microbiologique des sols peut dégrader certains contaminants; c'est notamment le cas pour plusieurs pesticides et les phénols (USGS, 1970 et 1974). De plus, l'adsorption sur les particules des sols est également susceptible de capter une part appréciable des contaminants; ceci est bien connu, par exemple, pour plusieurs métaux lourds (USGS, 1970 et 1974).

quoiqu'il en soit, nonobstant ces atténuations, il y a lieu de considérer que la qualité physico-chimique aquatique des bassins recevant des eaux de dépotoirs est sans doute affectée et que cette altération se présente vraisemblablement comme un gradient décroissant à partir des dépotoirs, compte tenu de l'effet de dilution.

Pour préciser un tel gradient décroissant d'impact, il faut échantillonner à divers points du bassin receveur. Ceci n'a pu toutefois être fait dans les bassins situés autour des cinq sites étudiés, suite à des contraintes budgétaires.

En plus de divers contaminants chimiques, les eaux des cinq sites renfermaient aussi des teneurs élevées en alcalinité, dureté, conductivité, nitrates, phosphore, DBU, DCU, carbone organique, solides en suspension et totaux (voir plus haut 3.a.1 et 2) par rapport à celles qu'on observe dans les eaux naturelles. Des hautes alcalinités, duretés et conductivités peuvent réduire la toxicité des métaux lourds (EPA, 1973) et des hautes concentrations en nitrates et phosphore sont susceptibles de favoriser les algues (Couture et al, 1980). Toutefois, ces deux dernières possibilités ne ressortaient guère dans les bioessais d'algues réalisés avec les eaux des sites (voir plus loin 4.c et 4.d), ce qui soutient qu'elles n'exerçaient qu'en effet très marginal par rapport à la toxicité évidente de ces eaux. Il faut plutôt considérer que les teneurs élevées en alcalinité, dureté, conductivité, nitrates et phosphore dans celles-ci perturbaient, au moins localement l'équilibre

physico-chimique naturel des bassins environnants. Ceci était également probable pour leurs hautes DBO (Demande Biochimique en Oxygène) et DCO (Demande Chimique en Oxygène), leur forte concentration en carbone organique et leur abondance en solides en suspension et totaux.

Ajoutons enfin que la quasi-absence d'oxygène dissous dans les eaux des sites (voir plus haut tableau 2) s'avérait un autre facteur défavorable qui risquait de diminuer par dilution l'oxygène dans les eaux réceptrices des bassins environnants.

Bref, le rejet des eaux des cinq sites constituait vraisemblablement un danger de perturbation chimique non négligeable pour les bassins récepteurs environnants. En effet, bien que ceux-ci n'aient pu être échantillonnés pour l'évaluer concrètement, ces eaux renfermaient des quantités excessives de contaminants inorganiques et organiques, des teneurs anormalement élevées pour plusieurs paramètres physico-chimiques et une pénurie très prononcée en oxygène.

4.b Action microbiologique et demande en oxygène

Au point de vue microbiologique, il y a également certaines possibilités d'effet des eaux des dépotoirs dans les eaux réceptrices des bassins environnants.

Mentionnons ici à ce propos que les contaminations observées dans les eaux des sites A, B, C et D' (voir plus haut 3.b) pouvaient sans doute infecter les eaux voisines.

De plus, il faut aussi se demander si l'abondance de bactéries hétérotrophes qu'on a constatée dans les eaux des sites A, C et D' (voir plus haut 3.b.1) ne risquait pas de modifier, au moins localement, le profil bactériologique et subséquent l'écosystème des eaux des bassins récepteurs.

La biodégradation par les microorganismes est également un facteur à considérer ici. Le potentiel des eaux des cinq sites à ce sujet a été évalué en examinant leur DBO (Demande Biochimique en Oxygène) par rap-

port à leur DCO (Demande Chimique en Oxygène) et à leur COT (Carbone Organique Total). Les résultats acquis pour ces trois paramètres (voir annexe 2) sont réunis dans le tableau 6.

Les données de ce tableau montrent que, dans les eaux échantillonnées,

- la DBO était très forte au site D, élevée aux sites A et B, modérément élevée au site D' ou E et faible au site C par rapport à la norme indicative émise à ce sujet par Environnement Canada (1980);
- la DCO se révélait haute, entre autres aux sites D, A et D';
- le COT, qui exprime la matière organique susceptible d'être dégradée, se trouvait en teneur très abondante au site D, abondante aux sites A, B et D' et normale au site C;
- la DBO s'avérait très inférieure à la DCO aux sites A, C et D'; ceci signifie que la biodégradation de la matière organique se révélait nettement plus faible que son oxydation chimique à ces lieux; par contre, aux sites B et D, cette biodégradation était plus prononcée et la DBO se rapprochait de la DCO.

La diffusion de DBO, DCO et COT élevées de même que celle des contaminations bactériennes et des nombreuses bactéries hétérotrophes n'ont pu être précisées entre les sites concernés et les bassins récepteurs environnants. En effet, des contraintes budgétaires n'ont pas permis d'échantillonner ces bassins pour ces paramètres.

Nonobstant ceci, il faut souligner ici que le rejet des eaux des cinq sites dans les bassins récepteurs s'avérait néfaste au point de vue microbiologique. De fait, elles pouvaient y apporter localement non seulement des contaminations microbiologiques, des agents pathogènes et des fortes teneurs en bactéries hétérotrophes perturbant l'équilibre microbiologique naturel (cas des sites A, C et D') mais aussi des hautes DBO et/ou DCO (cas des sites A, B, D et D'), lesquelles risquaient d'y diminuer considérablement l'oxygène dissous essentiel à la vie aquatique.

TABLEAU 6
DEMANDE EN OXYGENE DANS LES EAUX DES CINQ SITES

Paramètres	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'*	Eaux ou E naturelles ¹
DBO ₅ **	155	283	6	1503	42	< 10
DCO**	1086	404	94	1680	735	< 10
.....						
<u>DBO₅</u> DCO	0,14	0,70	0,06	0,89	0,06	
.....						
COT**	282	184	39	709	175	< 30

* Moyennes des valeurs brutes des triplicata/site (voir annexe 2 pour ces valeurs).

** DBO₅ : Demande Biochimique en Oxygène pour 5 jours en mg O₂/L.

DCO : Demande Chimique en Oxygène en mg O₂/L.

COT : Carbone Organique Total en mg C/L.

¹ Environnement Canada (1980)

4.c Toxicité sous-létale à court terme

Les perturbations physico-chimiques et microbiologiques que le rejet des eaux des dépotoirs entraîne dans les bassins récepteurs sont susceptibles d'y occasionner une toxicité. Au lieu de rejet comme tel, celle-ci peut être létale (voir plus haut 3.c); ensuite, il est permis de penser qu'avec la dilution et l'adsorption reliées au ruissellement, elle devient graduellement sous-létale dans les bassins récepteurs. La toxicité sous-létale des eaux des cinq sites méritait dès lors d'être étudiée avec une attention particulière. A cette fin, un programme de bioessais utilisant des paramètres physiologiques a été conçu pour tester ces eaux à diverses dilutions. Il a été articulé selon deux variables, à savoir la durée d'effet et l'étage écologique.

- . Durée d'effet: en toxicologie aquatique, on distingue de plus en plus des toxicités à court, moyen et long terme. Bien qu'aucune "frontière" temporelle n'ait été convenue jusqu'ici entre ces trois catégories, les diverses indications fournies dans la littérature à ce sujet (Sprague, 1971; EPA, 1973; APHA et al, 1980; Maciorowski et al, 1981) indiquent que des bioessais à court et moyen terme ne dépassent généralement pas 4 et 20 jours respectivement. Les tests sous-létaux des eaux des 5 sites ont dès lors été agencés en fonction de ces deux durées et leurs résultats sont subséquemment présentés en deux sections successives dans le présent rapport.
- . Etage écologique: souvent, les produits toxiques n'affectent pas avec la même intensité les différents paliers trophiques de l'écosystème aquatique (EPA, 1973), soit le niveau bactérien, le phytoplancton (algues), le zooplancton et les consommateurs (poissons). Il faut dès lors tester la toxicité avec des indicateurs biologiques pour chacun de ces paliers.

A court terme (< 96 heures), la toxicité sous-létale des eaux des cinq sites étudiés a été testée comme suit.

Etages trophiques	Indicateurs biologiques	Durées des bioessais	Paramètres physiologiques examinés	Références méthodologiques
Bactéries	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	< 5 min.	Bioluminescence 15°C	• Beckman Instruments (1980) • Joubert (1981) • Annexe 6, section 1
Phyto-plancton (algues)	<i>Chlamydomonas variabilis</i>	24 hres	Mobilité 24°C	• Joubert (1981) • Van Coillie et al (1982) • Annexe 7, section 1a
			Fluorescence 24°C	• Roy et Legendre (1979) • Couture et al (1982) • Van Coillie et al (1982) • Annexe 7, section 1a
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	24 hres	Fluorescence 24°C	• Idem
Zoo-plancton	Protozoaire <i>Colpidium campylum</i>	24 hres	Croissance de la culture cellulaire 24°C	• Dive et Leclerc 1975 • Annexe 6, section 8
	Cocépode <i>Daphnia pulex</i>	96 hres	Mobilité	• Joubert (1981) • Environnement Canada (1979b) • Annexe 6, section 7
Poissons	<i>Salmo gairdneri</i>	96 hres	Capacité natatoire 15°C	• Brett et Glass (1973) • Webb et Brett (1973) • Thellen et Van Coillie (1982)

Ces bioessais ont été réalisés généralement moins de 4 jours après le prélèvement des eaux aux cinq sites, sauf ceux utilisant *Daphnia pulex* qui n'ont pu être débutés avant un délai de 50 à 52 jours d'abord et de 91 à 93 jours ensuite durant lesquels les échantillons étaient conservés à 4°C. En parallèle, afin de vérifier si la toxicité des eaux des cinq sites changeait durant de tels délais en chambre froide, on refit des bioessais de *Photobacterium phosphoreum* avec ces eaux conservées pendant 65 jours à 4°C.

Les résultats de ces divers bioessais sont exposés à l'annexe 6 - section 1 (tableau 1) pour *Photobacterium phosphoreum*, à l'annexe 7 - section 1a (tableaux 2 et 3) pour *Chlamydomonas variabilis* et *Selenastrum capricornutum*, à l'annexe 6 - section 8 (tableau 14) pour *Colpidium campylum* et à l'annexe 6 - section 7 (tableaux 11 et 12) pour *Daphnia pulex*. Par ailleurs, les résultats obtenus lors des tests sous-létaux avec *Salmo gairdneri* n'ont montré aucune différence apparente entre la capacité natatoire des témoins et celles des individus ayant été traités durant 96 heures avec diverses concentrations des eaux des cinq sites.

Les indications fournies par les tests sous-létaux à court terme sont résumées au tableau 7 sous forme de CI50 (Concentrations Inhibant à 50% un paramètre physiologique) et d'UT₅₁ (Unités Toxiques sous-létales = 100% : CI50). Au palier sous-létal, ces deux valeurs correspondent à celles qui sont de plus en plus adoptées au palier létal (voir plus haut 3.c), soit les CL50 (Concentrations Létales pour 50% des individus) et les UT (Unités Toxiques létales). L'examen de telles valeurs permet des comparaisons de toxicité entre les niveaux létaux et sous-létaux, entre les indicateurs biologiques employés et entre les produits testés. Il faut cependant signaler ici que, faute d'autres méthodes actuellement recommandables, l'estimation des CI50 se fait avec une méthode dite "Probit" utilisée pour la détermination des CL50 chez les poissons (Stephan, 1971). La précision de cette estimation reste certes sujette à discussion mais elle situe toutefois les ordres de grandeur de toxicité.

TABLEAU 7
POTENTIEL SOUS-LETAL A COURT TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT ₅₁ **
Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence) 15 ⁰ C	Eaux	CI50 - 5 minutes	
	1 jour à 4 ⁰ C		
	après		
	prélèvement		
	A***	8,8% (8,1%)****	11,3 (12,4)****
	B***	76,9% (76,9%)****	1,3 (1,3)****
	C***	nd (nd)****	nd (nd)****
	D***	5,9% (5,3%)****	16,9 (18,7)****
	D' ou E***	7,9% (7,5%)****	12,6 (13,4)****
			<u>42,1</u> (45,8)****
	Eaux	CI50 - 5 minutes	
	65 jours à 4 ⁰ C		
	après		
	prélèvement		
	A***	33,3% (14,1%)****	3,0 (7,1)****
	B***	nd (nd)****	nd (nd)****
	C***	nd (nd)****	nd (nd)****
	D***	41,6% (5,7%)****	7,4 (17,6)****
	D' ou E***	23,8% (25,0%)****	4,2 (4,0)****
			<u>14,6</u> (28,7)****
.....			
Chlamydomonas variabilis (Fluorescence) 24 ⁰ C	Eaux	CI50 - 24 heures	
	1 à 3 jours à 4 ⁰ C		
	après		
	prélèvement		
	A	14,9%	6,7
	B	94,7%	1,1
	C	nd	nd
	D	12,4%	8,1
	D' ou E	19,1%	5,2
			<u>21,1</u>
Chlamydomonas variabilis (Mobilité) 24 ⁰ C	Eaux	CI50 - 24 heures	
	1 à 3 jours à 4 ⁰ C		
	après		
	prélèvement		
	A	8,5%	11,8
	B	nd	nd
	C	nd	nd
	D	12,3%	8,1
	D' ou E	20,5%	4,9
			<u>24,8</u>

TABLEAU 7 (suite)
POTENTIEL SOUS-LETAL A COURT TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT ₅₁ **
Selenastrum capricornutum souche INRS (Fluorescence) 24°C	Eaux 1 à 3 jours à 4°C après prélèvement (filtration: 0,45 µm)	CI50 - 24 heures	
	A	69,0%	1,4
	B	59,1%	1,7
	C	69,0%	1,4
	D	33,8%	3,0
	D' ou E	21,7%	4,6
			<u>12,1</u>
.....			
Colpidium campylum (Croissance) 24°C	Eaux quelques jours à 4°C après prélèvement	CI50 - 24 heures	
	A	0,5%	200
	B	non testé	non testé
	C	non testé	non testé
	D	> 1,0%	> 100
	D' ou E	0,5%	200
			<u>> 500</u>
.....			
Daphnia pulex (Mobilité) 24°C	Eaux 50 à 52 jours à 4°C - 6°C après prélèvement (filtration: 0,45 µm)	CI50 - 96 heures	
	A***	4,1%	24,4
	B***	80,0%*****	1,2*****
	C***	nd	nd
	D***	8,2%*****	12,2*****
	D' ou E***	5,7%	17,6
			<u>55,4</u>
.....			
	Eaux 91 à 93 jours à 4°C - 6°C après prélèvement (filtration: 0,45 µm)	CI50 - 96 heures	
	A	3,2 à 5,6%	17,9 à 31,2
	B	18,0 à 32,0%	3,1 à 5,5
	C	nd	nd
	D	nd	nd
	D' ou E	5,6 à 10,0%	10,0 à 17,9
			<u>31,0 à 54,6</u>
.....			

TABLEAU 7 (suite)
POTENTIEL SOUS-LETAL A COURT TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT ₅₁ **
Salmo gairdneri (Capacité natatoire) 15° C	Eaux 2 à 4 jours à 40° C après prélèvement	CI50 - 96 heures	
	A	nd	nd
	B	nd	nd
	C	nd	nd
	D	nd	nd
	D' ou E	nd	<u>nd</u> 0

* CI50 : Concentrations Inhibant à 50% un paramètre physiologique pendant une durée expérimentale précisée pour chaque type de test.

** UT₅₁: Unités Toxiques sous-létales = 100% / CI50.

*** Les triplicata des eaux prélevés à ces sites ont été testés comme tels lors de ces bioessais. Les UT₅₁ et CI50 qu'on obtint variaient par triplicata (voir annexe 6, tableaux 1 et 2), lequel phénomène pouvait s'expliquer par deux facteurs. D'une part, les échantillons provenaient de trois prélèvements successifs par site et, d'autre part, l'homogénéisation de chaque échantillon avant le bioessai à petit volume était relative. Quoiqu'il en soit, les ordres de grandeur des UT₅₁ ou CI50 s'avérant généralement assez voisins par triplicata, on a calculé des moyennes pour ces valeurs par triplicata; ces moyennes diffèrent quelque peu des médianes indiquées à l'annexe 6, tableau 1).

Pour les autres bioessais, on prépara des échantillons composés par site (triplicata répartis et mélangés en volumes 1:1:1). On testa ensuite chacun de ces échantillons en trois replicata: les écarts entre les résultats acquis ne dépassèrent guère un coefficient de variation de 15%.

**** CI50 et UT₅₁ (entre parenthèses) des eaux conservées dans des contenants en verre en parallèle avec celles des eaux conservées dans des bouteilles de polyéthylène, lesquelles sont couramment utilisées à cette fin.

***** Valeurs calculées pour les échantillons B₃ et D₂ (voir annexe 6, tableau 11).

nd : non détecté.

En examinant le tableau 7, on constate successivement les quatre points énoncés ci-dessous.

- (i) Après prélèvement dans des bouteilles en verre, les eaux des cinq sites étudiés avaient sensiblement la même toxicité sous-létale à court terme que celles recueillies dans des contenants en polyéthylène. Généralement, on choisit ce dernier type de contenant pour les échantillons à prendre et à conserver vu qu'il facilite les manutentions mais il faut rappeler ici que certains contaminants peuvent alors être absorbés sur les parois de polyéthylène et devenir ainsi partiellement non biodisponibles (APHA et al, 1980). Cette possibilité ne semblait cependant guère influencer la toxicité des eaux des cinq sites à court terme, comme l'indique la vérification toxicologique faite à ce sujet avec *Photobacterium phosphoreum*.
- (ii) La durée de conservation des échantillons à 4°C s'avérait un facteur susceptible de modifier la toxicité sous-létale des eaux des cinq sites. De fait, cette dernière diminuait pendant 65 jours à 4°C vis-à-vis de *Photobacterium phosphoreum* (voir aussi annexe 6, figure 1 à ce propos). En outre, entre 50-52 jours et 91-93 jours de conservation en chambre froide, elle augmentait pour les eaux du site B, régressait pour celles du site D et fluctuait quelque peu pour celles des sites A et U' vis-à-vis de *Daphnia pulex*. Ces différences explicitent qu'il est important de faire les bioessais le plus rapidement possible après le prélèvement des échantillons, faute de quoi leur toxicité peut se modifier. Compte tenu de ceci, il est difficile de considérer pour la suite de l'exposé les résultats toxicologiques acquis après 65 jours avec *Photobacterium phosphoreum* et après 50-52 et 91-93 jours avec *Daphnia pulex*.
- (iii) La sensibilité toxicologique se révélait inégale pour les différents types de bioessais sous-létaux effectués à court terme. En effet, en totalisant les unités toxiques qui ont été déterminées lors de ceux-ci pour les eaux des cinq sites, on constate qu'elle était:

- extrêmement élevée ($> 500 \text{ UT}_{51}$) pour la croissance cellulaire de *Colpidium campylum* en 24 heures;
- élevée ($42,1 \text{ UT}_{51}$) pour la bioluminescence de *Photobacterium phosphoreum* en 5 minutes;
- modérément élevée ($24,8 - 21,1$ et $12,1 \text{ UT}_{51}$) pour respectivement la mobilité et la fluorescence de *Chlamydomonas variabilis* et la fluorescence de *Selenastrum capricornutum* en 24 heures; ajoutons ici que, pour détecter les faibles toxicités des eaux des sites B et C, l'emploi de *Selenastrum capricornutum* s'avérait plus sensible que celui de *Chlamydomonas variabilis* tandis que la situation contraire prévalait pour l'évaluation des plus fortes toxicités des eaux des sites A, D et D';
- quasi nulle (0 UT_{51}) pour la capacité natatoire de *Salmo gairdneri* en 96 heures.

Il faut toutefois mentionner que les résultats toxicologiques obtenus avec *Colpidium campylum* ne peuvent malheureusement pas être retenus car les bioessais faits avec cet indicateur ont été incomplets (eaux des sites B et C non testées). Après cette restriction, il appert que le bioessai utilisant la bioluminescence de *Photobacterium phosphoreum* se révélait plus sensible à court terme que les expérimentations employant la mobilité et/ou la fluorescence des algues *Chlamydomonas variabilis* et *Selenastrum capricornutum*; quant aux tests de capacité natatoire de *Salmo gairdneri*, ils n'ont décelé aucune toxicité après 96 heures de traitement, laquelle durée était vraisemblablement insuffisante vu qu'ils ont fourni des résultats toxicologiques après 20 jours (voir 4.d).

- (iv) Le potentiel toxique sous-létal à court terme était différent dans les eaux des cinq sites étudiés comme l'indique ci-après le récapitulatif des unités toxiques précisées à cette fin:

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques) (Durées du test)	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E
	Unités Toxiques sous-létales: UT ₅₁				
Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence) (5 minutes)	11,3	1,3	nd	16,9	12,6
Chlamydomonas variabilis (Fluorescence) (24 heures)	6,7	1,1	nd	8,1	5,2
Chlamydomonas variabilis (Mobilité) (24 heures)	11,8	nd	nd	8,1	4,9
Selenastrum capricornutum (Fluorescence) (24 heures)	1,4	1,7	1,4	3,0	4,6
Salmo gairdneri (Capacité natatoire) (96 heures)	nd	nd	nd	nd	nd
TOTAL	31,2	4,1	1,4	36,1	27,3
MOYENNE	6,2	0,8	0,3	7,2	5,5
CI50 moyenne	16,1%	≈ 100%	≈ 100%	13,9%	18,2%

Il ressort que le potentiel toxique sous-létal à court terme s'avérait:

- prononcé dans les eaux des sites D, A et D' (CI50 moyennes respectives: 14,16 et 18%)
- quasi nul dans celles des sites B et C.

L'ordre décroissant de la toxicité sous-létale aquatique à court terme entre les cinq sites variait avec les indicateurs et paramètres biologiques étudiés. De fait, en fonction de ceux-ci, il se présentait selon des séquences différentes résumées ci-dessous:

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques) (Durées du test)	Ordres décroissants de la toxicité sous-létale à court terme des eaux des sites	
Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence) (5 minutes)	$D > D' > A$	$B > C$
Chlamydomonas variabilis (Fluorescence) (24 heures)	$D > A > D'$	$B > C$
Chlamydomonas variabilis (Mobilité) (24 heures)	$A > D > D'$	B, C
Selenastrum capricornutum (Fluorescence) (24 heures)	$D' > D$	$B > A, C$

N.B.: les encadrements pointillés correspondent à des regroupements possibles.

4.d Toxicité sous-létale à moyen terme

Lors de leur rejet et diffusion dans les bassins récepteurs environnants, les eaux des dépotoirs peuvent-elles causer des toxicités qui ne deviennent manifestes qu'après un délai de plusieurs jours? Pour répondre à cette question, certains tests écotoxicologiques à moyen terme (8 à 20 jours) ont été faits. Ils sont brièvement présentés ci-dessous:

<u>Étages trophiques</u>	<u>Indicateurs biologiques</u>	<u>Durées des bioessais</u>	Paramètres	<u>Références méthodologiques</u>
			<u>physiologiques examinés</u>	
Phytoplancton (algues)	Selenastrum capricornutum			
	Souche SPE (Environnement Canada, Longueuil)	8 jours	Croissance de la culture cellulaire 24 ⁰ C	. EPA (1979b) . Annexe 6, section 2
	Souche INRS (Institut National Recherche Scientifique, INRS-Eau, Québec)	8 jours	Croissance de la culture cellulaire 24 ⁰ C	. Chiaudani et Vighi (1978) . Joubert (1980) . Couture et al (1981) . Annexe 7, section 1b
		8 jours	Biocaptation des nutriments N et/ou P 24 ⁰ C	. EPA (1979b) . Couture et al (1981) . Annexe 7, section 1b

<u>Etages</u> <u>trophiques</u>	<u>Indicateurs</u> <u>biologiques</u>	<u>Durées des</u> <u>bioessais</u>	Paramètres	<u>Références</u> <u>méthodologiques</u>
			<u>physiologiques</u> <u>examinés</u>	
Phytoplancton (algues)	Selenastrum capricornutum			
	Souche INRS (Institut National Recherche Scientifique, INRS-Eau, Québec)	8 jours	Fluorescence 24 ⁰ C	. Couture et al (1982) . Van Coillie et al (1983) . Annexe 7, sections 1a et ab
Zooplancton	Copépode Daphnia pulex	14 jours	Mobilité 24 ⁰ C	. Environnement Canada (1977b) . OECD (1980) . Annexe 6, section 7
			Reproduction 24 ⁰ C	. OECD (1980) . Annexe 6, section 7
Poissons	Salmo gairdneri	20 jours	Capacité natatoire 15 ⁰ C	. Brett et Glass (1973) . Webb et Brett (1973) . Thellen et Van Coillie (1982)

Ces tests furent débutés 1 à 4 jours après la prise des échantillons aux cinq sites, excepté ceux faits avec *Daphnia pulex* qui ne purent être réalisés qu'après 91-93 jours. Bien que les échantillons aient été gardés à 4⁰C et ensuite 0⁰C pendant ce dernier délai, leur toxicité sous-

létale était susceptible de se modifier durant cette période. Ceci a été expérimenté avec *Selenastrum capricornutum* après 70 jours de conservation des eaux des sites à 4⁰C.

Lors de ces différents bioessais, on testa des échantillons composés par site (triplicata mélangés en volumes 1:1:1). On estima ensuite leurs CI₅₀ et UT₅₁ nonobstant la relative précision associée à de telles estimations (voir plus haut 4.c). Ces valeurs permettaient en effet des comparaisons ultérieures; elles sont regroupées au tableau 8 dans ce but.

Les constatations suivantes peuvent être établies à partir des données du tableau 8:

- (i) la toxicité sous-létale à moyen terme des eaux des sites pouvait se modifier lorsque celles-ci étaient conservées durant 70 jours à 4⁰C. En effet, les résultats obtenus avec *Selenastrum capricornutum* à ce sujet montrent qu'elle s'amplifiait alors dans les échantillons des sites E et A (par ordre décroissant) et diminuait dans ceux du site B (voir aussi annexe 6, figure 2 pour illustration). Ceci confirme que les bioessais des eaux de dépotoirs doivent être réalisés dans un laps de temps ne dépassant guère quelques jours après la prise des échantillons même lorsque ceux-ci sont gardés en chambre froide. Il s'ensuit que les résultats des tests sous-létaux à moyen terme acquis avec *Daphnia pulex* ayant été obtenus après 91-93 jours de conservation des échantillons à 4-6⁰C, s'avèrent probablement peu représentatifs de la toxicité originale des eaux des cinq sites et ne peuvent dès lors être retenus. Ajoutons ici que, pendant de longs bioessais, la toxicité de ces eaux est également susceptible de se modifier; ceci nous a amenés à ne pas expérimenter leur toxicité sous-létale à long terme (> 20 jours).
- (ii) La souche utilisée comme indicateur biologique est un facteur à considérer dans les bioessais de toxicité en plus de l'espèce choisie, du paramètre physiologique examiné et de la durée adoptée pour le test. De fait, lors des bioessais de croissance de *Selenastrum capricornutum* avec les eaux des cinq sites pendant 8 jours, la souche des SPE de cette espèce s'est révélée moins sensible à la toxicité de ces eaux que celle de l'INRS, 448 unités toxiques ayant

TABLEAU 8
POTENTIEL SOUS-LETAL A MOYEN TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT _{sl} **
Selenastrum capricornutum Souche d'Environ- nement Canada, SPE Longueuil (Croissance) 24°C	Eaux	CI50 - 8 jours	
	1 à 3 jours		
	à 40°C après		
	prélèvement		
	(filtration 0,45 µm)		
	A	2,0%	50
	B	0,8%	125
	C	35,7%	2,8
	D	0,4%	250
	D' ou E	5,0%	20
			<u>447,8</u>
	Eaux	CI50 - 8 jours	
	70 jours à 40°C		
	après		
	prélèvement		
	(filtration 0,45 µm)		
	A	1,3%	77
	B	1,8%	56
	C	29,4%	3,4
	D	0,4%	250
	D' ou E	2,0%	50
			<u>436,4</u>
Selenastrum capricornutum Souche de l'Institut National de la Recherche Scientifique (Croissance) 24°C	Eaux	CI50 - 8 jours	
	1 à 3 jours à 40°C		
	après		
	prélèvement		
	(filtration 0,45 µm)		
	A	4,6%	21,7
	B	< 30,0%	> 3,3
	C	48,0%	2,1
	D	< 0,2%	> 500,0
	D' ou E	5,5%	18,2
			<u>> 545,3</u>
(Biocaptation) des nutriments N et P)	Eaux	CI50 - 8 jours	
	1 à 3 jours à 40°C		
	après		
	prélèvement		
	(filtration 0,45 µm)		
	A	4,6%	21,7
	B	< 30,0%	> 3,3
	C	48,0%	2,1
	D	< 0,2%	> 500,0
	D' ou E	5,5%	18,2
			<u>> 545,3</u>

TABLEAU 8 (suite)

POTENTIEL SOUS-LETAL A MOYEN TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT ₅₁ **
Selenastrum capricornutum (Fluorescence) 24 ⁰ C	Eaux 1-3 jours à 4 ⁰ C après prélèvement (filtration 0,45 µm)	CI50 - 8 jours	
	A	4,6%	21,7
	B	< 30,0%	> 3,3
	C	60,0%	1,7
	D	0,6%	166,0
	D' ou E	6,0%	16,6
			<u>209,3</u>
.....			
Daphnia pulex (Mobilité) 24 ⁰ C	Eaux 91-93 jours à 4 ⁰ -6 ⁰ C après prélèvement (filtration 0,45 µm)	CI50 - 14 jours	
	A	3,2 à 5,6%	17,9 à 31,2
	B	< 10%	> 10
	C	56 à 100%	1,0 à 1,8
	D	nd	nd
	D' ou E	5,6 à 10%	10,0 à 17,9
			<u>> 38,9 à 60,9</u>
(Reproduction) 24 ⁰ C	Eaux 91-93 jours à à 4 ⁰ -6 ⁰ C après prélèvement (filtration 0,45 µm)	CI50 - 14 jours	
	A	3,2 à 5,6%	17,9 à 31,2
	B	< 10%	> 10
	C	56 à 100 %	1,0 à 1,8
	D	3,2 à 5,6%	17,9 à 31,2
	D' ou E	5,6 à 10,0%	10,0 à 17,9
			<u>56,8 à 92,1</u>
.....			

TABLEAU 8 (suite)

POTENTIEL SOUS-LETAL A MOYEN TERME POUR LES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques)	Sites	CI50*	UT ₅₁ **
Salmo gairdneri (Capacité natatoire) 15°C	Eaux 2 à 4 jours à 4°C après prélèvement	CI50 - 20 jours	
	A	1,0%	100
	B	19,0%	5,2
	C	nd	nd
	D	5,0%	20
	D' ou E	2,0%	50
			<u>175,2</u>

* CI50: Concentrations Inhibant à 50% un paramètre physiologique pendant une durée expérimentale précisée pour chaque type de test.

** UT₅₁: Unités Toxiques sous-létales = 100% : CI50.

N.B.: lors de chaque bioessai, les échantillons composés par site furent testés en trois replicata; les différences entre les résultats obtenus par replicata n'excédaient pas un coefficient de variation de 20%.

nd : non détecté.

alors été obtenues avec la première par rapport à plus de 545 avec la seconde. Signalons à ce propos qu'une variation analogue de sensibilité toxicologique a également été mise en évidence antérieurement entre 6 souches de *Selenastrum capricornutum* vis-à-vis de 6 composés toxiques de référence (Schoenert et al, 1982; Van Coillie et al, 1982).

(iii) La sensibilité toxicologique des tests sous-létaux à moyen terme effectués avec les eaux des cinq sites dépendait de certains facteurs, à savoir la souche utilisée comme indicateur (voir ii), l'espèce représentative du niveau écologique considéré et le paramètre physiologique choisi pour cette espèce. En effet, elle se répartissait de la façon suivante en fonction de ces facteurs:

- > 545,3 UT₅₁ pour la croissance cellulaire ou la biocaptation de nutriments N et P associée à celle-ci chez *Selenastrum capricornutum*, souche INRS, pendant 8 jours;
- 447,8 UT₅₁ pour la croissance cellulaire de *Selenastrum capricornutum*, souche SPE, durant 8 jours;
- > 209,3 UT₅₁ pour la fluorescence chez *Selenastrum capricornutum*, souche INRS, pendant 8 jours;
- 175,2 UT₅₁ pour la capacité natatoire de *Salmo gairdneri* durant 20 jours.

Ces données indiquent que, de façon générale, les tests sous-létaux à moyen terme faits avec *Selenastrum capricornutum* détectent davantage la toxicité des eaux des cinq sites que ceux effectués avec *Salmo gairdneri*. Ceci rejoint des constatations antérieures stipulant l'algue *Selenastrum capricornutum* se révèle plus sensible que la truite *Salmo gairdneri* vis-à-vis de divers effluents et produits toxiques (Joubert, 1981; Van Coillie et al, 1982).

- (iv) Les eaux des cinq sites avaient un potentiel toxique sous-létal à moyen terme différent, comme le montre le récapitulatif ci-après:

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques) (Durées des tests)	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E
	Unités Toxiques sous létales: UT ₅₁				
Selenastrum capricornutum Souche SPE (Croissance) (8 jours)	50,0	125	2,8	250	20,0
Selenastrum capricornutum Souche INRS (Croissance) (8 jours)	21,7	> 3,3	2,1	> 500	18,2
Selenastrum capricornutum Souche INRS (Biocaptation des nutriments N et P) (8 jours)	21,7	> 3,3	2,1	> 500	18,2
Selenastrum capricornutum Souche INRS (Fluorescence) (8 jours)	21,7	> 3,3	1,7	166	16,6
Salmo gairdneri (Capacité natatoire) (20 jours)	100	5,2	nd	20,0	50,0
TOTAL	215,1	> 140,1	8,7	> 1436	123,0
MOYENNE	43,0	> 28	1,7	> 287,2	24,6
CI50 moyenne	2,3%	< 3,6%	58,8%	< 0,3%	4,1%

Le potentiel toxique sous-létal à moyen terme des eaux se révélait donc:

- très prononcé aux sites D, A, B et D' (CI50 moyennes respectives: <0,3%, 2%, <3,6% et 4%)
- relativement prononcé au site C (CI50 moyenne: 59%).

L'ordre décroissant de ce potentiel entre les eaux des cinq sites variait avec l'indicateur et le paramètre expérimentés:

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques) (Durées des tests)	Ordres décroissants de la toxicité sous- létale à moyen terme des eaux des sites
--	---

**Selenastrum
capricornutum**
Souche SPE
(Croissance)
(8 jours)

$D > B > A > D' > C$

**Selenastrum
capricornutum**
Souche INRS
(Croissance)
(8 jours)

$D > [A > D'] > B > C$

**Selenastrum
capricornutum**
Souche INRS
(Biocaptation
des nutriments
N et P)
(8 jours)

$D > [A > D'] > B > C$

**Selenastrum
capricornutum**
Souche INRS
(Fluorescence)
(8 jours)

$D > [A > D'] > B > C$

Salmo gairdneri
(Capacité
natatoire)
(20 jours)

$A > D' > D > B > C$

N.B.: les encadrements pointillés correspondent à des regroupements possibles.

5. ANALYSES DE TROISIEME NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE

En vue d'une évaluation écotoxicologique appropriée, les eaux des cinq sites ne devaient pas seulement être étudiées pour leurs contaminations chimiques et microbiologiques toxiques (premier niveau: impact ponctuel) et leurs effets physico-chimiques, microbiologiques et toxicologiques dans les bassins récepteurs environnants (second niveau: impact de diffusion). Il fallait aussi vérifier si elles pouvaient occasionner des perturbations plus insidieuses avec portée plus fondamentale comme, par exemple, affecter le métabolisme cellulaire basal, induire des dérangements génétiques et contaminer par bioaccumulation des agents toxiques. En outre, il importait également d'examiner si leur toxicité était susceptible de se modifier par biodégradation. Ces différentes possibilités ont été expérimentées dans un troisième programme d'analyses (troisième niveau: impact général).

5.a Cytotoxicité

Pour savoir si les eaux des cinq sites pouvaient affecter des mécanismes cellulaires fondamentaux, on les testa avec des cultures de cellules dérivées des gonades de *Salmo gairdneri* (RTG-2) à 15°C ou de l'épithélium cutané humain (NCTC 2544) à 37°C. On examina ensuite les effets de ces eaux sur le contenu en protéines dans ces cultures en croissance. La méthodologie appliquée à cette fin a été détaillée dans deux ouvrages récents (Denizeau, 1982; Marion et Denizeau, 1983) et est résumée à l'annexe 8.

L'ensemble des résultats acquis lors de ces bioessais de cytotoxicité est décrit et discuté à l'annexe 8. Les effets les plus représentatifs ayant été obtenus après respectivement 8 et 16 jours de test dans les cultures NCTC 2544 et RTG-2, on se limitera à présenter ici les résultats acquis après ces deux périodes expérimentales. Le tableau 9 expose ces données.

Ce tableau indique que, excepté celles du dépotoir C, les eaux des sites avaient une cytotoxicité évidente. Celle-ci se présentait selon les ordres décroissants suivants:

. D, D', A > B > C pour les cellules de truite
(-86% à -82%) (-67%) (-7%)

. D > B > B > D', C pour les cellules humaines
(-60%) (-50%) (-33%) (-13 à -10%)

Il appert aussi que la cytotoxicité exercée se révélait globalement plus forte dans les cellules de truite que dans celles d'origine humaine. Rappelons toutefois que la durée du test a été plus longue pour les premières que pour les secondes quoique la température ait été plus haute pour ces dernières.

TABLEAU 9
POTENTIEL CYTOTOXIQUE DES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs cellulaires	Contrôle*	Site A*	Site B*	Site C*	Site D*	Site D'* ou E
Culture NCTC 2544 Cellules humaines (Croissance 8 jours) 37° C	627	311 soit -50%	420 soit -33%	574 soit -10%	232 soit -63%	544 soit -13%
Culture RTG-2 Cellules de truites (Croissance 16 jours) 15° C	258	47 soit -82%	87 soit -67%	239 soit - 7%	37 soit -86%	38 soit -85%

- * Quantités de protéines (en µg) des cultures cellulaires en croissance dans un milieu renfermant les eaux filtrées (0,20 µm) des sites à 50%; elles sont des moyennes de trois replicata/échantillon composé (triplicata en parts égales) par site et leurs écarts-type n'excédaient pas 10% de leurs valeurs (voir annexe 8, tableaux 1 et 2).

5.b Mutagénicité

Certains composés tels que le dichlorométhane, le trichloroéthylène et divers autres hydrocarbures sont reconnus comme étant mutagènes, voire carcinogènes (Rokosh et Lovasz, 1979). Or, ils ont été détectés dans les eaux des cinq sites (voir tableau 3). Il y avait donc lieu de suspecter que celles-ci avaient un potentiel mutagénique. Afin d'examiner cette éventualité, des tests de mutagénicité utilisant six souches mutantes de la bactérie *Salmonella typhimurium* pour la synthèse de l'histidine ont été faits avec ces eaux après filtration (0,22 µm) selon les techniques recommandées à cette fin (Ames et al, 1975; Rokosh et Lovasz, 1979; annexe 6, section 6).

Parmi les triplicata d'échantillons prélevés, seuls ceux provenant du site B se sont révélés mutagéniques. Les résultats obtenus pour les échantillons B₁, B₂ et B₃ à 4 volumes différents avec ou sans activation métabolique (facteur S₉) par rapport à des contrôles figurent à l'annexe 6, tableaux 10a, b et c.

Ils indiquent que les eaux des prélèvements B₁, B₂ et B₃ occasionnaient des mutations génétiques chez respectivement 6, 2 et 1 des 6 souches testées de *Salmonella typhimurium*. Cette différence de degré de mutagénicité entre les triplicata pris au site B est probablement reliable au fait que ceux-ci avaient été prélevés successivement (voir plus haut 2 et 3.a) et auraient été ensuite insuffisamment homogénéisés pour des tests à petit volume (voir annexe 6, sections 1 et 6).

5.c Bioaccumulation de toxicité

Les agents toxiques présents dans les eaux des cinq sites pouvaient non seulement agir directement sur les espèces des différents niveaux trophiques des écosystèmes aquatiques récepteurs environnants mais aussi être bioaccumulés et ensuite transférés entre ces différents niveaux trophiques. Pour expérimenter partiellement cette dernière possibilité, on a adopté une méthodologie mise au point par Blaise et al (1982). Des

volumes de culture d'algues *Selenastrum capricornutum* en phase de croissance exponentielle à 24°C étaient combinés avec des volumes équivalents d'échantillons composés par site (1:1). Après 24 heures, on recueillait les algues par centrifugation, on provoquait la rupture de leurs membranes cellulaires avec des ultrasons et on récoltait leur lysat cellulaire interne. Ce dernier, où des agents toxiques avaient pu être bioaccumulés durant 24 heures, était ensuite testé pour sa toxicité avec *Photobacterium phosphoreum* (voir plus haut 4.c). Les résultats de cette expérimentation limitée à une bioaccumulation de toxicité au palier trophique primaire ont été exprimés sous forme de facteurs de bioaccumulation toxique, soit $FB = (UT \text{ du lysat contaminé} - UT \text{ du lysat contrôle}) / UT \text{ de l'échantillon testé}$, lesquelles Unités Toxiques sous-létales étaient déterminées avec *Photobacterium phosphoreum*.

L'annexe 6, tableau 7 expose les facteurs de bioaccumulation toxique obtenus pour les eaux des cinq sites et leur signification en potentiel de bioaccumulation (PB) par rapport à ceux précisés antérieurement avec la même méthodologie pour 44 eaux résiduelles (Blaise et al, 1982). Les principales indications de cette étude sont résumées au tableau 10.

Les données de ce tableau montrent que la toxicité des eaux des sites était bioaccumulée chez les algues selon les degrés suivants:

- . très prononcé pour les sites B et D'
- . prononcé pour les sites D, A et C par ordre décroissant.

Etant donné que la bioaccumulation des métaux lourds dans les algues s'avère un phénomène lent dans les eaux résiduelles (14 jours pour une réduction de 50% de leurs concentrations initiales selon Becker, 1983), il est probable que les agents toxiques bioaccumulés durant 24 heures à partir des eaux des sites étaient principalement des composés organiques assez stables. On ne peut toutefois ignorer qu'à long terme, les métaux lourds de ces eaux restent susceptibles de contaminer par lente bioaccumulation les algues des bassins récepteurs environnants comme cela a été constaté ailleurs (Rai et al, 1981).

TABLEAU 10

BIOACCUMULATION DE LA TOXICITE DES EAUX DES CINQ SITES*

	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E
Facteur de bioaccumulation (FB) **	7,4	12,1	5,2	9,9	12,0
Potentiel de bioaccumulation (PB)**	Moyen	Fort	Moyen	Moyen	Fort

* Echantillons composés (triplicata en volumes égaux 1:1:1) par site et ensuite dilués à 25%.

** FB et PB: voir définitions au paragraphe 5.c.

5.d Biodégradabilité de la toxicité

En vue de vérifier si la toxicité des eaux des cinq sites changeait avec l'activité des agents microbiologiques environnementaux, des tests de biodégradabilité furent effectués avec des échantillons composés par site (triplicata en parts égales mélangées). Ces échantillons renfermaient des bactéries hétérotrophes psychrophiles (voir 3.b.1., tableau 4 et annexe 6 - sections 3.2 et 5.2, tableaux 6 et 8), lesquelles sont reconnues comme agents actifs de biodégradation (Blaise, 1973). Afin de mieux faire ressortir si la toxicité de ces échantillons pouvait être modifiée par le métabolisme d'une flore microbienne de ce type, on décida d'enrichir leur contenu microbiologique avec des additions microbiennes psychrophiles issues de trois rejets d'eaux usées relativement similaires à celles des cinq sites au point de vue chimique et microbiologique (Environnement Canada, SPE Longueuil, données non publiées). Pour cela, peu après le prélèvement de ces dernières, on recueillit des semences microbiennes dans ces trois rejets d'eaux domestiques durant l'hiver 1982 et, après concentration, on les mélangea et on les acclimata graduellement aux échantillons composés par site. Ensuite, un litre de cette semence microbienne fut diluée dans 200 litres de ces échantillons 5 jours après la prise de ceux-ci (conservation intérimaire à 4 °C). Le test de biodégradabilité eut lieu ultérieurement durant 31 jours à 15 °C $\pm$ 1 °C avec une photopériode de 16 heures jour-8 heures nuit et une agitation hebdomadaire manuelle. Pour les conditions-témoins, des eaux servant à l'acclimatation de truites arc-en-ciel ont été choisies.

A différents moments (jours 3, 10, 17, 24 et 31), on préleva des aliquotes durant le test de biodégradabilité et on estima leur contenu en bactéries psychrophiles par comptage différentiel à 20 °C et 35 °C selon la méthodologie de Stokes et Redmand (1966). Les résultats de cette estimation sont indiqués à l'annexe 6 - section 3.2, tableau 6. Ils indiquent que les bactéries hétérotrophes psychrophiles avaient eu une multiplication rapide durant les 10 premiers jours du test, laquelle s'était manifestée selon l'ordre décroissant suivant dans les eaux expérimentées des sites: D > B > D' > A > C > Conditions témoins. Ceci

permet de penser qu'il y avait eu alors utilisation relativement rapide des substances directement biodégradables et que les concentrations de ces dernières différaient avec ces eaux selon l'ordre pré-décrit. Par la suite, au 17ième jour du test, toutes les densités bactériennes hétérotrophes psychrophiles étaient considérablement abaissées, ce qui soutient que les substrats directement biodégradables avaient été métabolisés. Ultérieurement (jours 24 et 31), une reprise de la multiplication bactérienne était observée dans les eaux selon l'ordre décroissant suivant: D > D' > A > B > Conditions témoins > C. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une disponibilité de substances qui, après la phase de biodégradation directe, induisaient une synthèse de nouvelles enzymes microbiologiques capables de les métaboliser et de favoriser ainsi une nouvelle croissance de bactéries.

La toxicité des eaux des cinq sites était-elle modifiée lors de ces croissances bactériennes et des métabolisations de substrat associées à celles-ci? Pour répondre à cette question, on prit des aliquotes aux jours 0, 3, 10, 17, 24, 25 et 31 lors du test de biodégradabilité et on vérifia leur toxicité sous-létale à court terme vis-à-vis de *Photobacterium phosphoreum*. Les résultats qu'on obtint sont exposés à l'annexe 6 - section 3.2, tableau 4. Ils montrent que, durant le test de biodégradabilité, cette toxicité restait quasi-nulle dans les eaux du site C, n'était guère modifiée dans celles du site D', disparaissait rapidement dans celles du site B, augmentait pendant 17 jours et régressait ultérieurement dans celles du site A tandis qu'elle diminuait de façon discontinue dans celles du site D. En mettant en parallèle ces résultats avec ceux acquis pour la croissance bactérienne psychrophile (voir annexe 6 - section 3.2, figure 4), on constate que la métabolisation de divers composés lors de cette croissance pouvait avoir différents effets sur la toxicité des eaux des cinq sites vis-à-vis de *Photobacterium phosphoreum*. De fait, elle amplifiait d'abord cette toxicité et la réduisait ensuite pour A tandis qu'elle la supprimait assez vite pour B peu toxique et la laissait quasi-nulle pour C. Par ailleurs, elle l'abaissait irrégulièrement pour D et la faisait quelque peu fluc-

tuer pour D'. Les relations entre la biodégradabilité de divers composés dans les eaux des cinq sites et la toxicité de celles-ci pour *Photobacterium phosphoreum* apparaissaient donc variées et/ou changeantes.

Outre cette constatation, on a aussi remarqué que la toxicité des eaux des cinq sites pour *Photobacterium phosphoreum* pouvait être amplifiée pendant le test de biodégradabilité par des facteurs physico-chimiques, à savoir la montée progressive du pH au-delà de 8,5 à cause du métabolisme bactérien et la couleur et/ou la turbidité de l'échantillon (voir annexe 6 - section 3.2, figure 3 et tableaux 4 et 5). De plus, les excréments microbiennes (métabolites, antibiotiques, toxines) étaient alors également susceptibles d'accentuer la toxicité.

Nonobstant ces facteurs, la toxicité des eaux des cinq sites s'avérait généralement réduite mais point disparue à la fin du test de biodégradabilité. En effet, après les 31 jours de celui-ci effectué après 5 jours de conservation des échantillons à 4 °C pendant lesquels une biodégradation de leur toxicité débutait (voir annexe 6 - section 3.2, tableau 4), les échantillons des cinq sites se révélaient globalement moins toxiques pour *Photobacterium phosphoreum* comme pour l'algue *Selenastrum capricornutum* et la truite *Salmo gairdneri*, tel qu'explicité au tableau 11.

TABLEAU 11

BIODÉGRADABILITÉ DE LA TOXICITÉ DES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques)	Sites	CI50* ou CL50* (UTsl)** ou (UTl)** INITIALES***	CI50* ou CL50* (UTsl)** ou (UTl)** FINALES*** après 31 jours de test de biodégradabilité	Toxicité <u>initiale</u> Toxicité finale
Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence) 15 ⁰ C		CI50 - 5 minutes (UTsl) JOUR 0	CI50 - 5 minutes (UTsl) JOUR 31(+ 5)	
	A	8,5 % (11,8)	20,0 % (5,0)	2,4 x
	B	76,9 % (1,3)	nd (nd)	1,3 x
	C	nd (nd)	nd (nd)	nd
	D	5,6 % (17,8)	90,0 % (1,1)	16,2 x
	D'ou E	7,7 % (13,0)	50,0 % (2,0)	6,5 x
Selenastrum capricornutum Souche INRS (Croissance) 24 ⁰ C		CI50 - 8 jours (UTsl) échantillons filtrés (0,45 µm) JOUR 1 à 3	CI50 - 8 jours (UTsl) JOUR 31 (+ 5)	
	A	4,6 % (21,7)	10,0 % (10,0)	2,2 X

TABLEAU 11 (Suite)

BIODÉGRADABILITÉ DE LA TOXICITÉ DES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques)	Sites	CI50* ou CL50* (UTs1)** ou (UTl)** INITIALES***	CI50* ou CL50* (UTs1)** ou (UTl)** FINALES*** après 31 jours de test de biodégradabilité	Toxicité <u>initiale</u> Toxicité finale
	B	< 30 % (> 3,3)	100 % (1,0)	> 3,3 x
	C	48 % (2,1)	100 % (1,0)	2,1 x
	D	< 0,2 % (> 500)	44 % (2,3)	> 217 x
	D'ou E	5,5 % (18,2)	16 % (6,2)	2,9 x
(Fluorescence) 24 ^h c	A	4,6 % (21,7)	10 % (10,0)	2,2 x
	B	< 30 % (> 3,3)	100 % (1,0)	> 3,3 x
	C	60 % (1,7)	100 % (1,0)	1,7 x
	D	0,6 % (166,0)	42 % (2,4)	69,2 x
	D'ou E	6,0 % (16,6)	17 % (5,9)	2,8 x

TABLEAU 11 (Suite)
BIODÉGRADABILITÉ DE LA TOXICITÉ DES EAUX DES CINQ SITES

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologique)	Sites	CI50* ou CL50* (UTsl)** ou (UTl)** INITIALES***	CI50* ou CL50* (UTsl)** ou (UTl)** FINALES*** après 31 jours de test de biodégradabilité	Toxicité initiale Toxicité finale
Salmo gairdneri (Survie) 15° C		CL50 - 96 heures (UTl) JOUR 2	CL50 - 96 heures (UTl) JOUR 31 (+ 5)	
	A	1,9 % (52,6)	4,4 % (22,6)	2,3 x
	B	24,9 % (4,0)	nd (nd)	4,0 x
	C	nd (nd)	nd (nd)	nd
	D	8,3 % (12,0)	14,5 % (6,9)	1,7 x
	D'ou E	4,0 % (25,0)	7,5 % (13,3)	1,9 x

* CI50 ou CL50: Concentrations Inhibant à 50% un paramètre physiologique ou Concentration Létale pour 50% des individus pendant une durée expérimentale précisée pour chaque type de test.

** UTsl ou UTl: Unités toxiques sous-létales ou létales = 100% : CI50 ou 100%: CL50

*** Les valeurs initiales de toxicité ont été déterminées 0 à 3 jours après le prélèvement des échantillons aux sites; 5 jours après ce prélèvement, on débuta les tests de biodégradabilité qui durèrent 31 jours et, à la fin de ces tests, on précisa des valeurs finales de toxicité.

N.B.: les résultats obtenus ont été acquis à partir d'échantillons composés par site (triplicata en volumes égaux mélangés 1:1:1), sauf ceux de la toxicité initiale pour *Photobacterium phosphoreum* qui provenaient des moyennes des tripliata (voir tableau 7). Chaque échantillon composé a été testé en trois replicata; les coefficients de variation de ces replicata ne dépassaient guère 15%.

nd : non détecté.

Le tableau 11 indique non seulement que la toxicité des eaux des cinq sites diminuait avec la biodégradabilité des composés présents dans celles-ci mais aussi que cette diminution variait avec les indicateurs biologiques et les sites comme le fait ressortir le récapitulatif ci-dessous.

Indicateurs biologiques (Paramètres physiologiques) (Durées des tests)	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Moyennes
	Différences entre la toxicité avant et après la biodégradabilité des échantillons (voir tableau 11)					
Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence)(5 minutes)	2,4X	1,3X	nd	16,2X	6,5X	5,3X
Selenastrum capricornutum Souche INRS (1) Croissance 8 jours (2) Fluorescence après 8 jours Moyenne de (1) et (2)	2,2X	> 3,3X	1,9X	> 143,1X	2,9X	> 30,7X
Salmo gairdneri (Survie 4 jours)	2,3X	4,0X	nd	1,7X	1,9X	3,8X
Moyenne	2,3X	> 2,9X	< 1,9X	> 53,7X	3,8X	> 12,7X

La diminution de la toxicité des eaux des cinq sites avec leur biodégradabilité dépendait des:

- indicateurs biologiques: algue *Selenastrum capricornutum* (8 jours de bioessai) > *Photobacterium phosphoreum* (5 minutes de bioessai) > *Salmo gairdneri* (96 heures de bioessai);
- sites: D > D' > B > A > C

La toxicité qui restait dans les eaux des cinq sites après leur biodégradabilité durant 31 jours pouvait encore être bioaccumulée dans les algues *Selenastrum capricornutum* comme cela a été vérifié avec des tests de bioaccumulation similaires à ceux décrits antérieurement (voir section 5.c et annexe 6 - section 4). Cette bioaccumulation expérimentée après biodégradabilité différait toutefois de celle constatée avant biodégradabilité, comme l'illustrent les valeurs ci-après:

	<u>Site A</u>	<u>Site B</u>	<u>Site C</u>	<u>Site D</u>	<u>Site D' ou E</u>	<u>Moyennes</u>
Facteur de bioaccumulation de toxicité dans des algues avant biodégradabilité des échantillons (FBo) (voir tableau 10)	7,4	12,1	5,2	9,9	12,0	9,3
Facteur de bioaccumulation de toxicité dans des algues après biodégradabilité des échantillons (FBf) (voir annexe 6, section 4, tableau 7)	8,7	2,3	11,8	26,1	6,0	11,0
<u>FBo</u>						
FBf	0,9X	5,3X	0,4X	0,4X	2,0X	0,8X

Après biodégradabilité, la toxicité s'avérait donc moins bioaccumulable dans les algues pour les eaux des sites B et ensuite D' tandis que c'était le contraire pour celles des sites C, D et à faible degré, A.

6. INTEGRATION

Les résultats des analyses chimiques, microbiologiques et toxicologiques faites aux trois niveaux de protection environnementale avec les eaux des cinq sites doivent à présent être intégrés pour répondre aux deux buts de l'étude, à savoir:

- . un objectif local de préciser le danger écotoxicologique des eaux de chaque site;
- . un objectif plus général de proposer une méthodologie assez complète et articulée pour déterminer le potentiel écotoxicologique des rejets d'eaux usées provenant de dépotoirs ou d'autres lieux.

En vue d'atteindre ces deux buts, on a combiné deux approches, l'une axée sur les sites et l'autre basée sur une démarche par niveau de protection environnementale. Les résultats intégrés selon ces deux approches sont regroupés au tableau 12. Toutefois, avant de présenter celui-ci, il faut attirer l'attention sur deux points.

Remarque no 1. En vue d'obtenir des indications comparatives entre les diverses toxicités constatées aux sites, on totalisa les unités toxiques obtenues à chacun de ceux-ci. Un tel procédé d'additivité d'unités toxiques est de plus en plus utilisé en écotoxicologie pour des fins semi-relatives de comparaison depuis les travaux de Sprague (1971). Parallèlement, on fit de même pour les degrés d'excès pour les paramètres chimiques et ensuite microbiologiques dans une optique de regroupement.

Remarque no 2. L'étude étant plus orientée vers l'expérimentation d'une méthodologie multidisciplinaire que vers un "suivi de qualité", il n'y eut qu'un seul échantillonnage par site (voir 2). Les résultats de cet échantillonnage en triplicata sont donc ponctuels dans le temps et n'ont, de ce fait, qu'une valeur limitée concernant le cycle d'évolution de chaque dépotoir.

Examinons à présent le tableau 12.

TABLEAU 12
INTEGRATION DES DONNEES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
A. PREMIER NIVEAU						
1. Paramètres Chimiques						
1.a Composés inorganiques						Degrés d'excès*
- Ammoniac	19300	1700	400	4700	12300	38400
- Cyanures	1640	36	75	37	58	1846
- Sulfures	-	2	-	34	41	77
.....						
- Cadmium	100	70	65	130	235	600
- Fer	23	50	1	45	245	364
- Manganèse	1	13	3	16	4	37
- Chrome	2	1	1	1	5	10
Moyennes pour les composés inorga- niques	3009	267	78	709	1841	5904
1.b Composés organiques						Degrés d'excès*
- Phénols	46	88	16	752	38	940
- Huiles et graisses (hydrocarbures lourds)	235	10	90	15	15	365
- Hydrocarbures Volatils**	15	0	10	26	22	73
Moyennes pour les composés organiques	99	33	39	264	25	460

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNEES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
A. PREMIER NIVEAU (suite)						
1.c Paramètres physico- chimiques généraux	Degrés d'excès*					
- Phosphore	22	-	-	-	16	38
- Solides en suspension	3	2	-	3	30	38
- Dureté	3	3	4	6	4	20
- Solides totaux	4	1	3	3	3	14
- Conductivité	6	1	3	3	6	19
- Alcalinité	6	1	1	4	5	17
- Nitrates + Nitrites	4	-	1	1	1	7
- CIT (Carbone Inor- ganique Total)	2	-	-	-	1	3
- Nitrites	-	-	2	-	-	2
.....						
- DCO (Demande Chimique en Oxygène)	109	40	9	168	73	399
- DBO (Demande Bio- chimique en Oxygène)	15	28	-	150	4	197
- COT (Carbone Organique Total)	9	6	1	24	4	44
Moyennes pour les paramètres physico- chimiques généraux	15	7	2	30	12	66
Moyennes pour l'en- semble des para- mètres chimiques	1041	102	40	334	626	2143

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNEES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
A. PREMIER NIVEAU (suite)						
2. Paramètres micro- biologiques	Degrés d'excès*					
- <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	1600	37	666	5	400	2708
- Coliformes totaux	22	1	40	-	35	98
- Souches de <i>Proteus</i> / <i>Providencia</i>	32	-	18	-	4	54
Moyennes pour les paramètres micro- biologiques	551	13	241	2	146	953
3. Toxicité létale pour: <i>Salmo gairdneri</i> (après 96 heures)	Unités toxiques létales***					
	53	4	0	12	25	94
Moyennes pour l'ensemble du PREMIER NIVEAU	Degrés d'excès chimiques et microbiologiques					
	796	57	140	168	386	1547
	Unités toxiques létales***					
	53	4	0	12	25	94

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNÉES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
B. SECOND NIVEAU						
1. Paramètres chimiques (voir plus haut A.1)	1041	102	Degrés d'excès* 40	334	626	2143
2. Paramètres micro- biologiques (voir plus haut A.2)	551	13	Degrés d'excès* 241	2	146	953
3. Toxicité sous-létale						
3.a Toxicité sous- létale à court terme (<96 heures)			Unités toxiques sous-létales***			
- Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence après 5 minutes)	11	1	-	17	13	42
- Chlamydomonas variabilis (Mobilité après 24 heures)	12	-	-	8	5	25
- Chlamydomonas variabilis (Fluorescence après 24 heures)	7	1	-	8	5	21
- Selenastrum capricornutum INRS (Fluorescence après 24 heures)	1	2	1	3	5	12
- Salmo gairdneri (Capacité natatoire après 96 heures)	-	-	-	-	-	0
Moyennes pour la toxicité sous-létale à court terme	6	1	0	7	6	20

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNEES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
B. SECOND NIVEAU (suite)						
3.b Toxicité sous- létale à moyen terme (8 à 20 jours)	Unités toxiques sous-létales***					
- <i>Selenastrum capricornutum</i> INRS (Croissance après 8 jours)	22	3	2	500	18	545
- <i>Selenastrum capricornutum</i> INRS (Biocapta- tion des nutriments N et P après 8 jours)	22	3	2	500	18	545
- <i>Selenastrum capricornutum</i> SPE (Croissance après 8 jours)	50	125	3	250	20	448
- <i>Selenastrum capricornutum</i> INRS (Fluorescence après 8 jours)	22	3	2	166	17	210
- <i>Salmo gairdneri</i> (Capacité natatoire après 20 jours)	100	5	-	20	50	175
Moyennes pour la toxicité sous-létale à moyen terme	43	28	2	287	25	385
Degrés d'excès chimiques et microbiologiques*						
Moyennes pour l'ensemble du SECOND NIVEAU	796	57	140	168	386	1547
Unités toxiques sous-létales à moyen terme***						
	43	28	2	287	25	385

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNÉES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
C. TROISIEME NIVEAU						
1. Cytotoxicité	Unités toxiques sous-létales****					
- Cellules de truite (Protéines après 16 jours à 15°C en présence des eaux testées à 50%)	3	3	-	3	3	12
- Cellules humaines (Protéines après 8 jours à 37°C en présence des eaux testées à 50%)	2	1	-	2	-	5
Moyennes pour la cytotoxicité	2	2	-	2	1	7
2. Mutagénicité*****	-	100	-	-	-	100
3. Bioaccumulation de la toxicité après 24 heures à partir d'eaux testées à 25%	Unités toxiques sous-létales***					
	18	3	-	38	35	94

TABLEAU 12 (suite)
 INTEGRATION DES DONNEES

Niveaux de protection environnementale	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total des sites
Paramètres analysés						
C. TROISIEME NIVEAU (suite)						
4. Toxicité après biodégradabilité durant 31 jours à 15°C pour:	Unités toxiques sous-létales***					
- Bioaccumulation de la toxicité après 24 heures	10	-	1	6	3	20
- <i>Selenastrum capricornutum</i> (Croissance après 8 jours)	10	1	1	2	6	20
- <i>Selenastrum capricornutum</i> (Fluorescence après 8 jours)	10	1	1	2	6	20
- <i>Photobacterium phosphoreum</i> (Bioluminescence après 5 minutes)	5	-	-	1	2	8
Moyennes pour le maintien de la toxicité après biodégradabilité	9	-	1	3	4	17
C. TROISIEME NIVEAU (suite)						
Moyennes pour l'ensemble du TROISIEME NIVEAU	7	26	-	11	10	54

TABLEAU 12 (suite)

INTEGRATION DES DONNEES

-
- * Degrés d'excès: voir sections 3.a et 3.b. On n'a pu considérer les séries de résultats où il y avait des valeurs mentionnées avec des signes < car elles ne permettaient pas de définir de façon assez précise des degrés d'excès.
 - ** Divers composés d'hydrocarbures volatils se révélant mutagènes à partir d'environ 10 µg/L (Rokosh et Lovacz, 1979), nous avons choisi cette dernière valeur comme critère de comparaison.
 - *** Unités toxiques létales ou sous-létales: voir sections 3.c, 4.a, 4.d, 5.c et 5.d.
 - **** Unités toxiques sous-létales extrapolées à partir des résultats fournis.
 - ***** Afin de pouvoir associer les données de mutagénicité avec les autres résultats de troisième niveau, on a estimé qu'un effet mutagénique à 100% équivalait à un excès de 100 unités toxiques sous-létales.

- i) Il y avait des différences d'excès entre les sites, lesquelles différences variaient avec les niveaux de protection environnementale envisagés et les catégories de paramètres analysés, comme le montre le récapitulatif ci-après.

Cotes moyennes d'excès (Degrés moyens d'excès ou unités toxiques moyennes)						
	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total
PREMIER NIVEAU:						
Paramètres chimiques inorganiques	3009	267	78	709	1841	5904
Paramètres chimiques organiques	99	33	39	264	25	460
Paramètres physico- chimiques généraux	15	7	2	30	12	66
Ensemble des paramètres chimiques	1041	102	40	334	626	2143
.....						
Paramètres microbiologiques	551	13	241	2	146	953
.....						
Toxicité létale	53	4	0	12	25	94
Ensemble du PREMIER NIVEAU						
Excès chimiques et microbiologiques	796	57	140	168	386	1547
Toxicité létale	53	4	0	12	25	94
SECOND NIVEAU:						
Paramètres chimiques	1041	102	40	334	626	2143
.....						
Paramètres microbiologiques	551	13	241	2	146	953
.....						

Cotes moyennes d'excès
(Degrés moyens d'excès ou unités toxiques moyennes)

	Site A	Site B	Site C	Site D	Site D' ou E	Total
Toxicité sous-létale à court terme	6	1	0	7	6	20
Toxicité sous-létale à moyen terme	43	28	2	287	25	385

Ensemble du
SECOND NIVEAU

Excès chimiques et microbiologiques	796	57	140	168	386	1547
Toxicité sous-létale (à moyen terme)	43	28	2	287	25	385

TROISIEME NIVEAU:

Cytotoxicité	2	2	0	2	1	7
Mutagénicité	0	100	0	0	0	100
Bioaccumulation de la toxicité	18	3	0	38	35	94
Maintien de la toxicité après biodégradabilité	9	0	1	3	4	17

Ensemble du
TROISIEME NIVEAU

Toxicité sous-létale spéciale	7	26	0	11	10	54
-------------------------------	---	----	---	----	----	----

Ensemble des
TROIS NIVEAUX

Excès chimiques et microbiologiques	796	57	140	168	386	1547
Toxicité	35	19	1	103	20	178

Entre les sites, les cotes moyennes d'excès se distribuaient de la façon suivante:

<u>Paramètres</u>	<u>Ordres décroissants des excès</u>
PREMIER NIVEAU:	
Chimiques inorganiques	$A > D' > D > B > C$
Chimiques organiques	$D > A > C > B > D'$
Physico-chimiques	$D > A > D' > B > C$
.....	
Chimiques en général	$A > D' > D > B > C$
.....	
Microbiologiques	$A > C > D' > B > D$
.....	
Toxicité létale	$A > D' > D > B$
	N.B.: Aucune toxicité létale pour C.
RECAPITULATIF DU PREMIER NIVEAU	
Chimiques et microbiologiques	$A > D' > D > C > B$
Toxicité létale	$A > D' > D > B$
SECOND NIVEAU:	
Chimiques	$A > D' > D > B > C$
.....	
Microbiologiques	$A > C > D' > B > D$
.....	
Toxicité sous-létale à court terme	$D > (D' > A) > B$
	N.B.: Aucune toxicité sous-létale à court terme pour C.
Toxicité sous-létale à moyen terme	$D > A > (B, D') > C$
RECAPITULATIF DU SECOND NIVEAU	
Chimiques et microbiologiques	$A > (D' > D) > (C > B)$
Toxicité sous-létale (moyen terme)	$D > A > (B, D') > C$
Cytotoxicité	$(A, B, D) > D' > C$
Mutagénicité	B
	N.B.: Aucune mutagénicité pour A, C, D et D'
Bioaccumulation toxique	$(D, D') > A > (B, C)$
Maintien de toxicité après biodégradabilité	$A > (D', D) > C > B$
TROISIEME NIVEAU	
Toxicité spéciale	$B > (D, D') > A > C$

Cette liste explicite que l'ordre décroissant des excès moyens entre les sites changeait considérablement avec les catégories de paramètres et niveaux examinés. Dans ces conditions, il devenait difficile de classer les sites par ordre décroissant de potentiel écotoxicologique. Toutefois, afin de fournir une indication de tendance générale à ce sujet malgré tout, on a effectué un regroupement des cotes moyennes d'excès pour l'ensemble des trois niveaux. Ceci a permis d'estimer la tendance générale suivante:

Potentiel écotoxicologique général

$$(A \approx D' \approx D) > (B \approx C)$$

- ii) Bien que les sites A, D et D' présentaient de manière générale des valeurs plus élevées que celles des sites B et C pour les degrés d'excès chimiques et microbiologiques et pour les unités toxiques dans l'ensemble des trois niveaux de protection environnementale (voir i), il y a lieu d'attirer l'attention sur le fait que certains types d'excès ou de toxicité ont été surtout observés à B et C. Rappelons entre autres à ce sujet que le dépotoir B s'avérait le seul mutagénique et que le site C se classait en seconde position pour les excès microbiologiques alors que ceux-ci étaient quasiment absents en D. Soulignons ici que ceci montre indirectement qu'une évaluation écotoxicologique doit être faite avec un spectre étendu de paramètres, faute de quoi certains excès et/ou toxicités ne sont point décelés ou mal estimés.
- iii) Entre les sites D et D', à savoir respectivement la lagune et l'interface sol-dépotoir dans un puits au lieu d'enfouissement D, les différences étaient les suivantes pour les catégories de paramètres:

Paramètres	Cotes moyennes d'excès (Degrés moyens d'excès ou Unités toxiques moyennes)		Gradations
	Site D	Site D'	
PREMIER NIVEAU			
- Contaminants inorganiques	709	1841	D' > D
- Contaminants organiques	264	25	D > D'
- Physico-chimie	30	12	D > D'
.....			
- Ensemble des paramètres chimiques	334	626	D' > D
- Paramètres microbiologiques	2	146	D' > D
- Toxicité létale	12	25	D' > D
Ensemble du PREMIER NIVEAU			
- Excès chimiques et microbiologiques	168	386	D' > D
- Toxicité létale	12	25	D' > D
SECOND NIVEAU			
- Excès chimiques et microbiologiques	168	386	D' > D
- Toxicité sous-létale à moyen terme	287	25	D > D'
TROISIEME NIVEAU			
- Cytotoxicité	2	1	D ~ D'
- Mutagénicité	-	-	
- Bioaccumulation de toxicité	38	35	D ~ D'
- Maintien de toxicité après biodégradabilité	4	6	D ~ D'
.....			
Ensemble du TROISIEME NIVEAU			
- Toxicité sous létale	11	10	D ~ D'
Ensemble des excès chimiques et micro-biologiques	168	386	D' > D
Ensemble des toxicités	103	20	D > D'

L'examen de ces valeurs indique qu'il y avait beaucoup plus de contaminants inorganiques (ammoniac, cadmium, fer et cyanures principalement) à l'interface D' sol-dépotoir qu'à la lagune D. On observait par contre la situation contraire pour les contaminants organiques (phénols surtout) et pour les excès physico-chimiques (DCU, DBU et COT principalement) mais, nonobstant ceci, l'ensemble des excès chimiques s'avérait plus prononcé en D' qu'en D. C'était également le cas pour les excès microbiologiques vu que le site D avait un contenu bactérien très pauvre au moment de son échantillonnage. Au point de vue toxique, les eaux de D se révélaient globalement plus néfastes que celles de D', surtout à cause de la différence entre leurs toxicités sous-létales à moyen terme qui prédominait celle inverse constatée entre leurs toxicités létales: ceci explicite l'importance de faire des bioessais non seulement au niveau aigu mais aussi au niveau sous-létal. En résumé, l'interface D' dépotoir-sol était plus concentré en excès chimiques et microbiologiques que la lagune D tout en apparaissant moins toxique que celle-ci à moyen terme mais point à court terme.

- iv) Au point de vue chimique, les contaminants inorganiques se révélaient nettement plus abondants dans l'ensemble des cinq sites que les contaminants organiques, lesquels y prédominaient à leur tour les excès moyens physico-chimiques:

<u>Paramètres chimiques</u>	<u>Excès moyens pour l'ensemble des 5 sites</u>	<u>Totaux des excès pour l'ensemble des 5 sites</u>
- Contaminants inorganiques	5904	41334
		Total réparti en:
		38400 : ammoniac
		1846 : cyanures
		600 : cadmium
		364 : fer
		77 : sulfures
		37 : manganèse
		10 : autres

<u>Paramètres chimiques</u>	<u>Excès moyens pour l'ensemble des 5 sites</u>	<u>Totaux des excès pour l'ensemble des 5 sites</u>
- Contaminants organiques	460	1378 Total réparti en: 940 : phénols 365 : huiles 73 : hydrocarbures
- Paramètres physico-chimiques	66	798 Total réparti en: 399 : DCO* 197 : DBO* 44 : COT* 38 : phosphore 38 : polides en suspension 20 : dureté 62 : autres

- * DCO : Demande Chimique en Oxygène;
 DBO : Demande Biochimique en Oxygène;
 COT : Carbone Organique Total.

v) Les unités toxiques obtenues pour l'ensemble des cinq sites variaient avec le niveau de protection environnementale envisagé et, au sein de celui-ci, avec la durée du bioessai, l'espèce-souche testée et/ou le paramètre physiologique analysé, tel qu'explicité ci-dessous:

<u>Niveaux de protection envisagés</u>	<u>Unités toxiques moyennes pour l'ensemble des 5 sites</u>	<u>Totaux des unités toxiques pour l'ensemble des 5 sites</u>
<u>NIVEAU I:</u>		
- Toxicité létale	94	94 Total atteint avec <i>Salmo gairdneri</i> (Mortalité 96 heures)

Niveaux de
protection
envisagés

Unités toxiques
moyennes pour l'en-
semble des 5 sites

Totaux des unités
toxiques pour l'en-
semble des 5 sites

NIVEAU II:

- Toxicité sous-
létale à court
terme
($\leq$ 96 heures)

20

100
Total réparti en:
42 : *Photobacterium
phosphoreum*
(Bioluminescence,
5 minutes)
25 : *Chlamydomonas
variabilis*
(Mobilité, 24 heures)
21 : *Chlamydomonas
variabilis*
(Fluorescence,
24 heures)
12 : *Selenastrum
capricornutum* INRS
(Fluorescence,
24 heures)
0 : *Salmo gairdneri*
(Capacité natatoire,
96 heures)

- Toxicité sous-
létale à moyen
terme
(8 à 20 jours)

385

1923
Total réparti en:
545: *Selenastrum
capricornutum*
INRS (Croissance,
8 jours)
545: *Selenastrum
capricornutum*
INRS (Biocaptation
des nutriments
N et P, 8 jours)
448: *Selenastrum
capricornutum*
SPE (Croissance,
8 jours)
210: *Selenastrum
capricornutum*
INRS (Fluorescence,
8 jours)

<u>Niveaux de protection envisagés</u>	<u>Unités toxiques moyennes pour l'ensemble des 5 sites</u>	<u>Totaux des unités toxiques pour l'ensemble des 5 sites</u>
<u>NIVEAU II: (suite)</u>		
- Toxicité sous-létale à moyen terme (8 à 20 jours) (suite)		175 : <i>Salmo gairdneri</i> (Capacité natatoire 20 jours)
<u>NIVEAU III:</u>		
- Toxicité sous-létale spéciale	54	218 Total réparti en: 100 : Mutagénicité 94 : Bioaccumulation de toxicité 17 : Maintien de toxicité après biodégradabilité 7 : Cytotoxicité

Par rapport aux valeurs acquises pour la toxicité létale après 96 heures, les résultats obtenus pour la toxicité sous-létale à court terme (< 96 heures) apparaissaient très bas. Ceci surprend car, normalement, les unités toxiques augmentent entre les paliers létal (CL50: concentrations létales à 50%) et sous-létal (CI50: concentrations inhibitrices à 50%) selon Sprague (1971). La durée des tests sous-létaux faits à court terme avec *Photobacterium phosphoreum* (5 minutes) ou avec *Chlamydomonas variabilis* et *Selenastrum capricornutum* (24 heures) fut-elle trop brève ou le traitement de 96 heures fut-il insuffisant pour influencer la capacité natatoire de *Salmo gairdneri*? C'est possible mais, quoiqu'il en soit, les unités toxiques sous-létales à court terme se révélaient trop faibles pour être retenues dans l'intégration des données de l'étude; ceci n'empêche toutefois point que les tests sous-

létaux à court terme conservent une utilité d'indication préliminaire. Par ailleurs, les bioessais sous-létaux à moyen terme, notamment ceux effectués avec *Selenastrum capricornutum* pendant 8 jours, précisaient des valeurs de toxicité très supérieures à celles définies au niveau léthal et complétaient ainsi ces dernières. Afin d'obtenir un portrait le plus approprié possible pour la toxicité, il faut analyser celle-ci non seulement aux paliers léthal et sous-léthal mais aussi pour certains aspects importants tels que la mutagénicité, la cytotoxicité, la bioaccumulation des agents toxiques et la biodégradabilité de ces derniers; ceci a été réalisé au troisième niveau d'étude de protection environnementale. Les valeurs de toxicité acquises à ce niveau doivent dès lors être celles du niveau sous-léthal.

Les cinq séries d'indications précédentes permettent de confirmer que, pour une caractérisation écotoxicologique appropriée des eaux provenant de dépotoirs, il faut analyser celles-ci non seulement aux plans chimiques et microbiologiques mais aussi au plan toxique. A cette fin, nous avons expérimenté une démarche basée sur trois niveaux de protection environnementale où les impacts envisagés étaient respectivement local, régional et général (voir conceptualisation au tableau 1). A partir des résultats acquis lors de l'expérimentation de cette démarche, on peut recommander une méthodologie schématisée au tableau 13 pour des études écotoxicologiques intégrées des rejets d'eaux usées de dépotoirs ou d'autres lieux.

TABLEAU 13

METHODOLOGIE PROPOSEE POUR UNE ETUDE ECOTOXICOLOGIQUE
 INTEGREE DES REJETS AQUATIQUES

Niveaux de protection environnementale	Types d'impact	Catégories de paramètres		
		Analyses chimiques*	Analyses microbiologiques*	Analyses toxicologiques*
NIVEAU I	LOCAL (au lieu de rejet)	<u>Contaminants inorganiques</u> (Ammoniac, cyanures, sulfures, métaux lourds, etc...)	<u>Paramètres bactériologiques généraux</u> (Coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux, bactéries hétérotrophes)	<u>Toxicité létale poissons</u> Salmo gairdneri (Mortalité, 96 heures)
		<u>Contaminants organiques</u> (Phénols, hydrocarbures, pesticides, Poly-Chloro-Biphényles, etc...)	<u>Agents pathogènes</u> Pseudomonas aeruginosa , souches de Proteus/ Providencia avec résistance aux antibiotiques communs, etc...)	
		<u>Paramètres physico-chimiques</u> (Demande Chimique en Oxygène, Demande Biochimique en Oxygène, Carbone Organique Total, solides en suspension, phosphore, dureté, etc...)		

TABLEAU 13 (suite)

METHODOLOGIE PROPOSEE POUR UNE ETUDE ECOTOXICOLOGIQUE
 INTEGREE DES REJETS AQUATIQUES

Niveaux de protection environnementale	Types d'impact	Catégories de paramètres		
		Analyses chimiques*	Analyses microbiologiques*	Analyses toxicologiques*
NIVEAU II	REGIONAL (dans les eaux environnantes)			<u>Toxicité létale à court terme pour estimer</u> les paliers de concentrations toxiques de façon préliminaire <u>bactéries</u> Photobacterium phosphoreum (Bioluminescence, 5 minutes) <u>phytoplancton</u> Chlamydomonas variabilis ou Selenastrum capricornutum (Fluorescence, 24 heures) <u>zooplancton</u> Colpidium campylum (Croissance, 24 heures) ou Daphnia magna ou pulex (Mobilité, 24 heures)

TABLEAU 13 (suite)

METHODOLOGIE PROPOSEE POUR UNE ETUDE ECOTOXICOLOGIQUE
 INTEGREE DES REJETS AQUATIQUES

Niveaux de protection environnementale	Types d'impact	Catégories de paramètres		
		Analyses chimiques*	Analyses microbiologiques*	Analyses toxicologiques*
NIVEAU II REGIONAL (suite)				<u>Toxicité sous-létale à moyen terme pour préciser les concentrations toxiques efficaces</u>
				<u>phytoplancton</u>
				Selenastrum capricornutum (Croissance, voire fluorescence, 8 jours)
				<u>zooplancton</u>
				Daphnia magna ou pulex (Reproduction, voire mobilité, 8 à 14 jours)
				<u>poissons</u>
				Salmo gairdneri (Capacité natale, voire respirométrie, 8 à 20 jours)

TABLEAU 13 (suite)

METHODOLOGIE PROPOSEE POUR UNE ETUDE ECOTOXICOLOGIQUE
INTEGREE DES REJETS AQUATIQUES

Niveaux de protection environnementale	Types d'impact	Catégories de paramètres		
		Analyses chimiques*	Analyses microbiologiques*	Analyses toxicologiques*
NIVEAU III	GENERAL (action diffuse et/ou prolongée)			<u>Toxicité sous-létale spéciale</u> <u>cytotoxicité</u> pour des cultures cellulaires de <i>Salmo gairdneri</i> <u>mutagénicité</u> pour <i>Salmonella typhimurium</i> <u>bioaccumulation de toxicité</u> dans <i>Selenastrum capricornutum</i> <u>biodégradabilité de toxicité</u> pour le phyto-plancton, le zoo-plancton et/ou les poissons.

* Les analyses chimiques et microbiologiques doivent être débutées dans les 24 heures suivant l'échantillonnage et la logistique des tests toxicologiques doit être agencée en moins de 4 jours après ce dernier (le maintien des échantillons a lieu à 4°C).

La méthodologie proposée au tableau 13 peut donner un aperçu écotoxicologique relativement complet pour des rejets d'eaux usées. Elle est agencée de manière à fournir trois niveaux d'informations sur les risques de ces rejets, à savoir respectivement leur mauvaise qualité ponctuelle, leurs possibilités d'effets néfastes lors de la dilution dans l'environnement et, finalement, leurs caractéristiques toxiques spéciales et/ou prolongées. L'application de cette méthodologie est réalisable en 8 jours avec moins de 300 litres de rejet; son prix total fluctuerait entre \$4,000. et \$5,000. par rejet selon les laboratoires concernés. Certes, le choix de certains paramètres toxicologiques est discutable et adaptable selon les disponibilités régionales de laboratoires; de plus, l'agencement de certains bioessais peut être modifié (par exemple, Kobayashi a proposé à ce sujet en 1982 que des tests de biodégradabilité précèdent ceux d'écotoxicité). Quoiqu'il en soit, il reste essentiel de maximiser, en une période relativement brève (8 jours), l'obtention d'informations écotoxicologiques avec un spectre diversifié de paramètres. Cette diversification s'avère nécessaire; en effet, rappelons ici à ce propos le cas du site B qui, après plusieurs analyses le catalogant comme relativement peu néfaste, se révéla très nocif lors des bioessais de mutagénicité. Notre méthodologie intègre cette diversification dans une maximisation d'analyses et s'inscrit dans les efforts faits dans cette voie depuis quelques années par des organismes gouvernementaux tels que l'UCOE (Office de Coopération et de Développement Economique), Environnement Canada et Environnement Québec.

7. CONCLUSIONS

Notre étude a montré que des eaux de quatre dépotoirs québécois, échantillonnés lors de l'été 1982 à cinq sites (A, B, C, D et D': sites avec des rejets respectivement urbano-industriel, domestique, agricole, mixte en lagune et mixte à l'interface sol-dépotoir), présentaient les caractéristiques écotoxicologiques résumées ci-après.

- a) Au premier niveau de protection environnementale, c'est-à-dire au lieu de rejet comme tel, les eaux échantillonnées renfermaient des excès chimiques et microbiologiques alarmants, lesquels se répartissaient comme suit:

Paramètres chimiques ou microbiologiques	Totaux des excès* pour les 5 sites	Excès* totaux par site
Contaminants inorganiques	41334 Distribution de ce total: 38400 : ammoniac 1846 : cyanures 600 : cadmium 369 : fer 77 : sulfures 37 : manganèse 10 : chrome	A : 21060 D' : 12088 D : 4963 B : 1872 C : 545 Total: 41334
Contaminants organiques	1378 Distribution de ce total: 940 : phénols 365 : huiles 73 : hydrocarbures volatils	D : 793 A : 296 C : 116 B : 98 D' : 75 Total: 1378
	(+ 40 Poly-Chloro- Biphényles en A)	

Paramètres chimiques ou microbiologiques	Totaux des excès* pour les 5 sites	Excès* totaux par site
Paramètres physico-chimiques	798	
	Distribution de	D : 362
	ce total:	A : 183
	399 : DCO (Demande	D' : 147
	Chimique en	B : 82
	Oxygène)	<u>C : 24</u>
	197 : DBO (Demande	Total: 798
	Biochimique	
	en Oxygène)	
	44 : COT (Carbone	
	Organique Total)	
	38 : phosphore	
	38 : solides en	
	suspension	
	20 : dureté	
	17 : alcalinité	
	14 : solides totaux	
	12 : autres	

N.B. : Aucune radio-
activité anormale

Ensemble des	43510	
paramètres	Distribution de	A : 21545
chimiques	ce total:	D' : 13110
	41334 : inorganique	D : 6118
	1378 : organique	B : 2052
	798 : physico-chimique	<u>C : 685</u>
		Total: 43510

Paramètres chimiques ou <u>microbiologiques</u>	Totaux des excès* pour les 5 sites	Excès* totaux par site
Paramètres microbiologiques	2860	
	Distribution de	A : 1654
	ce total:	C : 724
	2708 : <i>Pseudomonas</i>	D' : 439
	<i>aeruginosa</i>	B : 38
	98 : Coliformes	D : 5
	totaux	Total: 2860
	54 : <i>Proteus/</i>	
	<i>Providencia</i>	
	résistant aux	
	antibiotiques	
	communs	
	(+ 316 <i>Streptocoques</i>	
	fécaux en D'	
	+ 170 <i>Streptocoques</i>	
	fécaux en A	
	+ 83 Coliformes	
	fécaux en C	
	+ 47 <i>Streptocoques</i>	
	fécaux en C	
	+ 13 <i>Streptocoques</i>	
	fécaux en B)	

* Excès par rapport aux indications normatives gouvernementales (Environnement Canada, 1980) pour les eaux naturelles.

Ces excès chimiques et microbiologiques occasionnaient une toxicité létale chez les truites *Salmo gairdneri* en 96 heures (excepté au site C):

Paramètre toxicologique létal	Total des unités toxiques létales pour les 5 sites	Unités toxiques létales par site
Mortalité à court terme (96 heures)	94 truites <i>Salmo gairdneri</i> (mortalité, 96 heures)	A : 53 D' : 25 D : 12 B : 4 C : 0

De manière générale, les eaux des sites A, D et D' se révélaient plus nocives que celles des sites B et C (nonobstant la quasi-absence d'excès microbiologiques en D et l'importance de ceux-ci en C). Leur nocivité était davantage reliée à des facteurs inorganiques (surtout ammoniac, cyanures, cadmium et fer) qu'organiques (entre autres phénols et huiles), physico chimiques (notamment Demande Chimique en Oxygène, Demande Biochimique en Oxygène et Carbone Organique Total) et microbiologiques (principalement *Pseudomonas aeruginosa* et streptocoques fécaux).

Ajoutons que les eaux des sites, hormis celles en D, avaient des hautes teneurs ($4 \text{ à } 114 \times 10^6 \text{ n/100 mL}$) en bactéries hétérotrophes psychrophiles propices pour des biodégradabilités.

- b) Au second niveau de protection environnementale, c'est-à-dire lors de leur diffusion dans l'environnement régional, les eaux des cinq sites pouvaient affecter la qualité chimique et microbiologique des bassins récepteurs et y causer des toxicités selon des gradients décroissants à partir des lieux de rejet. La toxicité sous-létale résultant de la dilution des eaux de ces cinq sites dépendait de différentes variables, tel que stipulé ci-dessous:

<u>Paramètres toxicologiques sous-létaux</u>	<u>Totaux des unités toxiques sous-létales pour les 5 sites</u>	<u>Unités toxiques sous-létales par site</u>
A court terme ($\leq$ 96 heures)	100	D : 36
	Distribution de ce total:	A : 31
	42 : bactéries	D' : 28
	Photobacterium	B : 4
	phosphoreum	<u>C : 1</u>
	(bioluminescence, 5 minutes)	Total: 100
	25 : algues	
	Chlamydomonas	
	variabilis	
	(mobilité, 24 heures)	
	21 : algues	
	Chlamydomonas	
	variabilis	
	(fluorescence, 24 heures)	
	12 : algues	
	Selenastrum	
	capricornutum	
	(fluorescence, 24 heures)	
	0 : poissons	
	Salmo gairdneri	
	(capacité natatoire, 96 heures)	
		
	Moyenne : 20	

Paramètres
toxicologiques
sous-létaux

A moyen terme
(8 à 20 jours)

Totaux des unités
toxiques sous-létales
pour les 5 sites

1923

Unités toxiques
sous-létales
par site

Distribution de ce total:

545 : algues*

*Selenastrum
capricornutum*
souche INRS
(croissance,
8 jours)

D : 1436

A : 216

B : 139

D' : 123

C : 9

Total: 1923

545 : algues*

*Selenastrum
capricornutum*
souche INRS
(biocaptation
des nutriments
N et P, 8 jours)

448 : algues*

*Selenastrum
capricornutum*
souche SPE
(croissance,
8 jours)

210 : algues*

*Selenastrum
capricornutum*
souche INRS
(fluorescence,
8 jours)

* Moyenne pour les algues: 437

175 : poissons

Salmo gairdneri
(capacité natatoire,
20 jours)

.....

Moyenne : 385

En résumé, la toxicité sous-létale associée à la dilution des eaux échantillonnées présentait les trois gradations générales suivantes:

A moyen terme > A court terme*
(8 à 20 jours) (< 4 jours)

Site D > Sites A, B, D' > Site C

Sensibilité des algues > Sensibilité des poissons

* Mentionnons ici que les bioessais sous-létaux réalisés à court terme, bien que relativement peu sensibles, s'avèrent utiles pour obtenir rapidement des indications toxicologiques préliminaires: ceci est notamment le cas pour les tests avec les bactéries *Photobacterium phosphoreum* du système Microtox (bioluminescence, 5 minutes) et avec les algues *Chlamydomonas variabilis* ou *Selenastrum capricornutum* (fluorescence, 24 heures).

- c) Au troisième niveau de protection environnementale auquel on examine les effets toxicologiques spéciaux, les eaux des sites se révélaient également néfastes, tel qu'indiqué ci-après:

<u>Paramètres toxicologiques spéciaux</u>	<u>Totaux des unités toxiques sous-létales pour les 5 sites</u>	<u>Unités toxiques sous- létales par site</u>
Effets toxiques	118	D : 43
		D' : 40
	Distribution de ce total:	A : 29
	94 : bioaccumulation de toxicité	B : 5
		<u>C : 1</u>
	17 : maintien de toxicité après biodégradabilité (31 jours)	Total : 118

Paramètres toxicologiques spéciaux	Totaux des unités toxiques sous-létales pour les 5 sites	Unités toxiques sous- létales par site
Effets toxiques (suite)	7 : cytotoxicité protéique	
Effets mutagéniques	effets décelés uniquement en B	B : 100% A,C,D,D' : 0%

Soulignons ici l'importance de ces quatre effets car ils indiquent que la toxicité des eaux des cinq sites était bioaccumulable, non biodégradable (au moins partiellement), nocive à l'échelle fondamentale cellulaire et mutagénique (au moins pour le site B) dans les écosystèmes receveurs.

- d) Lors de l'analyse écotoxicologique aux trois niveaux de protection environnementale, les différences suivantes sont apparues entre les eaux de lagune et celles de l'interface sol-dépotoir au lieu d'enfouissement D:

	Lagune D		Interface D' (sol-dépotoir)
Excès inorganiques	4963	<	12088
Excès organiques	793	>	75
Excès physico-chimiques	362	>	147
Excès microbiologiques	5	<	439
Toxicité létale (Unités toxiques)	12	<	25
Toxicité sous-létale (Unités toxiques)	1472	>	151
Toxicité spéciale (Unités toxiques)	43	>	40

Il appert donc que l'interface sol-dépotoir était beaucoup plus contaminé que la lagune (excepté pour les produits organiques) au dépotoir D et que la toxicité aigue de cet interface s'avérait plus prononcée que celle de la lagune tandis que la situation contraire s'observait pour la toxicité sous-létale.

La démarche méthodologique adoptée lors de l'étude a permis d'obtenir une caractérisation écotoxicologique assez large des eaux usées des cinq sites. En combinant concomitamment plusieurs analyses chimiques, microbiologiques et toxicologiques à trois niveaux de protection environnementale, elle a en effet donné à la fois une diversification et une maximisation d'informations et, à ce titre, peut être proposée pour des études écotoxicologiques intégrées de rejets aquatiques. Pour être appliquée avec d'autres rejets, la démarche doit être faite en veillant à deux points. D'une part, il faut concentrer les analyses et les tests des échantillons dans un délai assez court (≤ 4 jours) vu que, tel que vérifié, ils sont sujets à une biodégradabilité intrinsèque et à des changements subséquents même à 4°C . D'autre part, on ne doit pas être limitatif par étape pour les analyses et les tests; l'exemple du site B s'avère illustratif à ce sujet lorsqu'on a montré qu'après être apparu relativement peu néfaste durant les premières analyses, il se révéla très nocif au cours des bioessais de mutagénicité. En tenant compte de ces deux points, la démarche expérimentée est adaptable à divers types de rejets aquatiques.

Axée vers les impacts ponctuels, régionaux et généraux successivement pour un rejet aquatique (voir tableau 1), la méthodologie étudiée précise non seulement les contaminants chimiques et agents microbiologiques pathogènes présents dans ce rejet aquatique mais aussi sa toxicité à court terme (≤ 96 heures) et à moyen terme (≤ 14 jours) de ce rejet ainsi que sa toxicité insidieuse à long terme. Le choix des bioessais pour expliciter ces trois types de toxicité est très large: il faut l'orienter vers des critères sensibles, reproductibles et techniquement peu complexes. Le regroupement et l'intégration de ces opérations peut se faire selon une grille d'évaluation que nous précisons ci-après dans un tableau final.

TABLEAU 14

GRILLE D'EVALUATION ECOTOXICOLOGIQUE POUR DES REJETS AQUATIQUES

Niveaux de protection environnementale	Type d'impact	Analyses à faire***	Bioessais à faire***	
			Court terme	Moyen terme
PRIMAIRE	Local (Ponctuel)	Chimiques* Microbiologiques**	(≤ 4 jours) Tests létaux CL50 Par exemple: Survie Truites	(8 à 14 jours)
SECONDAIRE	Régional (Diffusion)		Tests sous-létaux Par exemple: Bactéries Microtox, Fluorescence algues, Mobilité daphnies	Tests sous-létaux Par exemple: Croissance algues, Reproduction daphnies, Physiologie poissons
TERTIAIRE	Général		Tests spéciaux Par exemple: Mutagénicité, Cytotoxicité, Bioaccumulation, Biodégradabilité, etc...	

* Paramètres chimiques: Métaux lourds, pesticides persistants, cyanures, sulfures, ammoniac, huiles, phénols, DCO, DBO, etc.

** Paramètres microbiologiques: Coliformes, streptocoques, *Pseudomonas*, *Salmonella*, etc.

*** Les différentes opérations doivent être débutées dans un délai inférieur à 4 jours après échantillonnage et conservation (0°C).

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMES, B.N., J. McCANN AND E. YAMASAKI. 1975. "Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test".
Mutation Res. 31: 347-384.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) and WPCF (Water Pollution Control Federation). 1980. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater".
APHA editor, Washington, 15th edition: 1134 p.
- BECKER, E.W. 1983. "Limitations of Heavy Metal Removal from Waste Water by Means of Algae".
Water Res., 17: 459-466.
- BECKMAN INSTRUMENTS INC. 1980. "Operating Instruction of Microtox T.M. Toxicity Analyzer System, Model 2055".
Beckman Instruments Inc., U.S.A., Manual 110679.
- BELL, C.G. and H. HAYNES. 1958. "Liquid Scintillation Counting".
Pergamon Press, Oxford.
- BLAISE, C. 1973. "Degradative Microorganisms in the Ottawa River".
M.Sc. Thesis, University of Ottawa, Ottawa: 119 p.
- BLAISE, C., B. SKA, G. SABATINI, N. BERMINGHAM ET R. LEGAULT. 1982. "Potentiel de bioaccumulation de substances toxiques d'eaux résiduelles industrielles à l'aide d'un bioessai utilisant des algues et des bactéries".
Dans: Les tests de toxicité aigue en milieu aquatique. Publication INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), cahier spécial, Paris: 155-165.
- BRETT, J.R. AND N.R. GLASS. 1973. "Metabolic Rates and Critical Swimming Speeds of Sockeye Salmon *Oncorhynchus nerka* in Relation to Size and Temperature".
J. Fish. Res. Bd. Can., 30: 379-387.
- CHIAUDANI, G. AND M. VIGHI. 1978. "The Use of *Selenastrum capricornutum* Batch Cultures in Toxicity Studies".
Mitt. Internat. Verein Limnol., 21: 316-329.
- COUTURE, P., D. CLUIS ET L. POTVIN. 1980. "Etude limnologique du bassin versant du lac Saint-Jean (Québec, Canada). Correspondance entre production et biodisponibilité d'éléments nutritifs".
Annales Limnol., 16: 103-117.
- COUTURE, P., D. COUILLARD ET G. CRUTEAU. 1981. "Un test biologique pour caractériser la toxicité des eaux usées".
Environm. Pollut. Ser. B, 2: 217-222.

- COUTURE, P., R. VAN COILLIE, P.G.C. CAMPBELL ET C. THELLEN. 1982. "Le phytoplancton, un réactif biologique sensible pour détecter rapidement la présence de toxiques".
 Dans: Les tests de toxicité aigue en milieu aquatique. Publication INSERM (Institut National de la Santé et Recherche Médicale), cahier spécial, Paris: 255-272.
- DENIZEAU, F. 1982. "Développement d'un nouveau type de bioessai servant à évaluer la qualité de l'eau par l'emploi de cellules animales cultivées in vitro".
 Rapport pour Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Région du Québec: 61 p.
- DIVE, D. ET H. LECLERC. 1975. "Standardized Test Method Using Protozoa for Measuring Water Pollutant Toxicity".
 Progress Water Technol., 7: 67-72.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 1979. "Analytical Methods Manual".
 Environment Canada, Inland Waters Directorate, Ottawa.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 1979b. "Culture and Toxicity Testing Methods Using *Daphnia Pulex* at the Aquatic Toxicology Laboratory, EPS, Northwest Region".
 Environment Canada, Environmental Protection Service, Northwest Region, Edmonton, Alberta, Special Report.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 1980. "Références sur la qualité des eaux. Guide des paramètres de la qualité des eaux".
 Environnement Canada, Direction Générale des Eaux Intérieures, Ottawa: 100 p.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 1980b. "Méthode normalisée de contrôle de la toxicité aigue des effluents".
 Environnement Canada, Direction générale de lutte contre la pollution des eaux, Règlements et méthodes d'analyse, Rapport EPS 1-WP-80: 11 p.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 1981. "Analytical Methods Manual 1979: Update 1981".
 Environment Canada, Inland Waters Directorate, Ottawa: 5 p.
- ENVIRONNEMENT QUEBEC. 1979. "Méthodes d'analyse du mercure dans l'eau, les sédiments, les boues, les sols, les milieux biologiques, l'air et les hydrocarbures".
 Environnement Québec, Bureau d'Etudes sur les Substances Toxiques, Québec: 204 p.
- ENVIRONNEMENT QUEBEC. 1980. "Méthodes d'analyse des pesticides organochlorés et des biphényles polychlorés dans l'eau, les sédiments, les boues, les sols, les milieux biologiques, l'air et les hydrocarbures".
 Environnement Québec, Bureau d'Etudes sur les Substances Toxiques, Québec: 184 p.
- ENVIRONNEMENT QUEBEC. 1981. "Règlement relatif la gestion des déchets solides".
 Gazette Officielle du Québec, 18 novembre 1981.

EPA (Environmental Protection Agency). 1973. "Water Quality Criteria Book. Volume 3: Effects of Chemicals on Aquatic Life". Environmental Protection Agency of U.S.A., Washington, D.C.: 537 p.

EPA (Environmental Protection Agency). 1979. "Methods for Benzidine, Chlorinated Organic Compounds, Pentachlorophenols and Pesticides in Water and Wastewater".
IN: Test Methods for Evaluating Solid Waste. Physical/Chemical Methods. Environmental Protection Agency of U.S.A., Washington, D.C. Appendice 3: 155 p.

EPA (Environmental Protection Agency). 1979b. "The *Selenastrum capricornutum* Printz Algal Assay Bottle Test: Experimental Design, Application and Data Interpretation Protocol".
Environmental Research Laboratory, Environmental Protection Agency, Corvallis, Oregon 97370, EPA-600/9-78-018, 126 p.

FEDERAL REGISTER. 1979a. "Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Method 610".
Federal Register of U.S.A., 44: 69514-69517.

FEDERAL REGISTER. 1979b. "Purgeables: Method 624".
Federal Register of U.S.A., 44: 69532-69539.

GELDREICH, E.E. AND B.A. KENNER. 1969. "Concepts of Fecal Strotococci in Stream Pollution".
J. Water Pollut. Control Fed., 41: 336-352.

JOUBERT, G. 1981. "Etude comparative des réactions à la toxicité entre la truite *Salmo gairdneri* et quatre autres intégrateurs biologiques sur 36 cas de bioessais statiques".
Can. Techn. Rep. Fish. Aquat. Sci. 990: 251-264.

JOUBERT, G. 1980. "A Bioassay Application for Quantitative Toxicity Measurements, Using the Green Algae *Selenastrum capricornutum*".
Water Res., 14: 1759-1763.

KATSUTOSHI, K. 1982. "Safety Examination of Existing Chemicals: Selection Testing, Evaluation and Regulation in Japan".
Office of Economical Cooperation and Development, Proceedings of OECD Meeting on Existing Chemicals, Paris, March 18 and 19, 1982: 141-163.

MACIOROWSKI, A.F., J.L. SIMS, L.W. LITTLE AND F.O. GERARD. 1981. "Bioassays, Procedures and Results".
J. Water Pollut. Control Fed., 53: 974-993.

MARION, M. AND F. DENIZEAU. 1973. "Rainbow Trout and Human Cells in Culture for the Evaluation of the Toxicity of Aquatic Pollutants: A Study with Lead".
Aquatic Toxicology, 3: 47-60.

OECD (Office of Economical Cooperation and Development). 1980. "Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 2: Effects on Biotic Systems".
Office of Economical Cooperation and Development, Special Publication.

- RAI, L.C., J.P. GAUR AND H.D. KUMAR. 1981. "Phycology and Heavy Metal Pollution".
Biol. Rev., 56: 99-151.
- ROKUSH, D.A. AND T.N. LUVASZ. 1979. "Detection of Mutagenic Activity: Screening of Twenty-Three Compounds of Industrial Origin in the St. Clair River".
Special Report of Ontario Ministry of the Environment, Toronto: 30 p.
- ROY, S. ET L. LEGENDRE. 1979. "DCMU-Enhanced Fluorescence as an Index of Photosynthetic Activity in Phytoplankton".
Marine Biol., 55: 181-186.
- SANTOS FERREIRA, M.O. 1977. "Marqueurs épidémiologiques de *Pseudomonas aeruginosa*".
Thèse Doctorat d'Etat, Université Paris Sud, no 69.
- SCHOENERT, R., P. COUTURE, C. THELLEN AND R. VAN CUILLIE. 1982. "The Sensitivity of Six Strains of Unicellular Algae *Selenastrum capricornutum* to Six Reference Toxicants".
Can. Techn. Rep. Fish. Aquat. Sci., 1151: 200-202.
- SHOTTS, E.B. AND R. RIMLER. 1973. "Medium for the Isolation of *Aeromonas Hydrophyla*".
Appl. Microbiol., 26: 550-553.
- SPRAGUE, C.E. 1971. "Review Paper: Measurement of Pollutant Toxicity to Fish. II. Utilizing and Applying Bioassay Results".
Water Res., 5: 245-266.
- STEPHAN, C.E. 1971. "Methods for Calculating a LC50".
IN: Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. F.L. Mayer and J. Hamelink, editors. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 634: 65-84.
- STOKES, J.L. AND M.L. REDMOND. 1966. "Quantitative Ecology of Psychrophilic Microorganisms".
Appl. Microbiol., 14: 74-78.
- TENNANT, A., R. TOXOPEUS, J.A.P. BASTIEN, M. BEAUCHAMP AND J. WANDEVINT. 1975. "Salmonella in Poultry Packing Plant Effluents".
Environment Canada, Environmental Protection Service, Ontario Region, Report EPS 4-UR-75-1: 30 p.
- THELLEN, C. ET R. VAN CUILLIE. 1982. "Effets toxiques d'une préparation opérationnelle de fénitrothion sur trois espèces de salmonidés".
Rapport pour Ministère Energie Ressources du Québec, Direction de l'Environnement: 98 p.
- USGS (United States Geological Survey). 1970. "Study and Interpretation of the Chemical Characteristics of Natural Waters".
Geological Survey of USA, Water Supply Paper, Second Edition. Report 1473.

USGS (United States Geological Survey). 1974. "Quality of Surface Waters of the United States".

Geological Survey of USA, Water Supply Paper, Report 2141.

VAN COILLIE, R., P. COUTURE, R. SCHOENERT ET C. THELLEN. 1982. "Mise au point d'une évaluation rapide de la toxicité originale des effluents et de leurs composants à l'aide d'algues".

Rapport Eco-Recherches pour Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Région du Québec et Rapport Scientifique no 148, Institut National de la Recherche Scientifique, INRS-Eau, Université du Québec: 130 p.

VAN COILLIE, R., P. COUTURE ET S. VISSER. 1983. "The Use of Algae in Aquatic Ecotoxicology".

IN: Advances in Environmental Science, Aquatic Ecotoxicology, John Wiley and Sons, New York, Chapter 18 (in press).

VEZEAU, R. 1982. "Protocoles d'échantillonnage, de préservation et de préparation des échantillons pour les analyses des polluants prioritaires". Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Laboratoires de Longueuil, Québec: 34 p.

WEBB, P.W. AND J.R. BRETT. 1973. "Effects of Sublethal Concentrations of Sodium Pentachlorophenate on Growth Rate, Food Conversion Efficiency and Swimming Performance in Underyearling Sockeye Salmon *Oncorhynchus nerka*".

J. Fish. Res. Bd. Can., 30: 499-507.

ANNEXE 1
MODALITES DE PRESERVATION DES ECHANTILLONS
POUR LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

A) Paramètres généraux et inorganiques

<u>Paramètre</u>	<u>Préservatif</u>	<u>Contenant à 4° C*</u>	<u>Volume minimal</u>	<u>Délai maximal</u>
pH	-	P	0,1 L	6 heures
Alcalinité	-	P	0,2 L	24 heures
Ammoniac	-	P	0,5 L	24 heures
Nitrites	-	P	0,2 L	24 heures
Nitrates	-	P	0,2 L	24 heures
Carbone total	-	P	0,1 L	24 heures
Conductivité	-	P	0,5 L	24 heures
DCO**	-	P	0,2 L	24 heures
Dureté	-	P	0,2 L	24 heures
Phosphore	-	V	0,2 L	24 heures
Solides en suspension	-	P	0,4 L	48 heures
Solides totaux	-	P	0,4 L	48 heures
Cyanures	10 mL NaOH 10%/L	P brun	0,5 L	24 heures
Sulfures	2 mL Acétate Zn/L	P	0,1 L	28 jours
Mercure	1 mL HNO ₃ pur 1 mL K ₂ Cr ₂ O ₇ à 5% 100 mL échantillon	V	0,5 L	28 jours
Autres métaux	2 mL HNO ₃ /pur/L	P	3,0 L***	180 jours
Radioactivité	2 mL HNO ₃ /pur/L	P	0,5 L	180 jours

(APHA et al, 1980; Environnement Canada, 1981)

ANNEXE 1 (suite)

B) Paramètres et contaminants organiques

<u>Paramètre</u>	<u>Préservatif</u>	<u>Contenant à 4°C*</u>	<u>Volume minimal</u>	<u>Délai maximal</u>
Carbone organique total ¹	-	P brun	0,1 L	24 heures
DBO ₅ ** ¹	-	P	1,0 L	4 heures
Phénols ¹	H ₂ SO ₄ jusqu'à pH < 4 et 1,0 g CuSO ₄ /L	V	0,5 L	24 heures
Huiles et graisses hydrocarbures ¹	H ₂ SO ₄ jusqu'à pH < 2	V	1,0 L	24 heures
Pesticides organo-chlorés ¹	-	V	1,0 L	Le plus court possible
Pesticides organo-phosphates ¹	-	V	1,0 L	Le plus court possible
Pesticides carbamates	H ₂ SO ₄ jusqu'à pH < 4	V	1,0 L	Le plus court possible
Pesticides chlorophénoxyacides et triazines ¹	H ₂ SO ₄ jusqu'à pH < 2	V	1,0 L	Le plus court possible
PolyChloroBiphényles ² (PCB)	-	V	1,0 L	Le plus court possible
Hydrocarbures volatils ³	100 mg Na ₂ S ₂ O ₃ /L	V	0,2 L	Le plus court possible

¹ Environnement Canada (1981)

² Environnement Québec (1980)

³ APHA et al (1980)

* Contenants en polypropylène (P) ou en verre (V) préalablement nettoyés avec savon, eau, acétone et hexane et séchés selon des procédures utilisées par Environnement Canada (Vezeau, 1982).

** DBO₅ : Demande Biochimique en Oxygène pour 5 jours.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

*** Généralement, il faut 0,2 L d'échantillon par métal à analyser.

ANNEXE 2

RESULTATS BRUTS POUR LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES GENERALES ET INORGANIQUES DES EAUX DES CINQ SITES

(TRIPLICATA D'ECHANTILLONS PAR SITE A, B, C, D, ET D')

Paramètre	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃	D ₁	D ₂	D ₃	D' ₁ ou E ₁	D' ₂ ou E ₂	D' ₃ ou E ₃
pH	7,5	7,5	7,6	7,1	7,1	7,2	7,4	7,4	7,4	7,1	7,1	7,2	7,0	7,0	7,0
Alcalinité (mg/L)	3200	3060	2900	498	544	502	658	634	644	1600	1570	2290	2730	2710	2710
CN (µg/L)	9900	7200	7500	220	200	120	450	360	320	160	150	240	380	240	250
Phénols (µg/L)	50	49	40	87	89	88	13	13	17	739	779	739	37	38	40
H ₂ S (µg/L)	16	<10	<10	53	48	56	<10	<10	<10	418	768	856	825	971	685
NH ₃ (mg/L)	413	386	360	32	34	35	8,4	8,1	7,4	97	92	92	193	279	267
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,25	0,25	0,20	0,28	0,28	0,20	1,73	1,55	1,50	0,33	0,66	0,20	0,28	0,53	0,66
NO ₃ ⁻ (mg/L)	12,8	15,4	15,4	2,0	1,8	1,7	6,7	7,7	7,4	6,7	6,7	7,4	4,8	5,1	5,6
* C.O.T. (mg/L)	258	262	325	182	182	188	38	38	42	696	688	744	175	174	175
* C.T. (mg/L)	1140	1240	1054	297	303	300	221	206	229	1012	996	1026	688	804	810
Conductivité (µS/cm à 25°C)	8900	9200	8500	2200	2100	2100	4500	4400	4300	4100	4100	4100	10400	8400	8000
** D.C.O. (mg O ₂ /L)	1130	1160	967	401	428	383	100	91	91	1650	1610	1780	735	735	735
** D.B.O. ₅ (mg O ₂ /L)	170	170	125	295	270	285	5	6	6	1440	1415	1655	40	40	45
Hydrocarbures (mg/L)	28	79	35	3	3	1	34	9	12	1	4	4	3	3	3
Dureté (mg/L)	360	418	376	311	350	321	495	458	457	743	747	752	559	534	543
Hg (µg/L)	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
P (mg/L)	2,55	2,09	1,99	0,03	0,07	0,03	0,08	0,09	0,11	0,03	0,02	0,03	1,54	1,76	1,54
Solides en suspension (mg/L)	87	68	93	53	52	48	9	8	8	68	50	65	750	794	681
Solides totaux (mg/L)	4200	4170	4060	1420	1420	1420	3430	3290	3370	3310	3350	3400	6440	6510	6200
Ag (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
As (µg/L)	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	10	10	10	20	20	20
Ba (mg/L)	1,0	1,0	0,9	<0,1	<0,1	0,3	<0,1	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	1,1	0,9	0,8
Cd (µg/L)	20	25	14	25	8	8	20	<5	20	30	14	35	63	35	43
Ca (mg/L)	58,5	71,0	62,5	73,5	82,5	76	116,5	94,5	106,5	151,5	152,5	157	115	96	97
Cr (mg/L)	0,09	0,09	0,09	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,06	0,04	0,29	0,18	0,18
Cu (µg/L)	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	300	100	120
Fe (mg/L)	7,2	6,8	7,1	14,6	14,8	16,0	0,30	0,38	0,60	14,2	13,2	13,0	90,0	69,0	61,5
Mg (mg/L)	52,0	58,5	53,5	31,0	35,0	32,0	49,5	54,0	46,5	88,5	89,0	87,5	66,0	71,5	73,0
Mn (mg/L)	0,16	0,17	0,19	2,69	2,72	2,63	0,71	0,73	0,71	3,38	3,26	3,24	1,35	0,83	0,74
Ni (µg/L)	110	80	110	<40	<40	<40	<40	<40	<40	<40	<40	<40	170	170	140
Pb (mg/L)	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,4	0,2	0,2
Se (µg/L)	<5	<5	13	<5	<5	<5	<5	<5	6	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Zn (mg/L)	0,11	0,14	0,13	0,01	0,03	0,07	0,02	0,05	0,05	0,02	0,02	0,06	1,56	1,00	0,91
C.I.T.	882	978	729	115	121	112	183	168	187	316	308	282	513	630	635

* Carbone Organique Total, Carbone Total et Carbone Inorganique Total

** Demande Chimique en Oxygène et Demande Biochimique en Oxygène pour 5 jours

ANNEXE 3

RESULTATS BRUTS POUR LES CONTAMINANTS ORGANIQUES DES EAUX DES CINQ SITES*

(TRIPLICATA D'ECHANTILLONS PAR SITE A, B, C, D ET D')

Contaminant	Méthode d'analyse	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃	D ₁	D ₂	D ₃	D' ₁ ou E ₁	D' ₂ ou E ₂	D' ₃ ou E ₂
Poly-Chloro-Biphényles (PCB)	1	0,4	0,5	0,4	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Lindane	1	<0,02	<0,02	<0,02	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004	<0,0004
Méthoxychlore	1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Toxaphène	1	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4
Endrin	1	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04	<0,04
2,4D	1	<3	<3	<3	<1	<1	<1	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
2,4,5T	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
2,4,5TP	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Atrazine	2	<0,5	<0,5	<0,5	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,5	<0,5	<0,5
Cyanazine	2	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4
Diméthoate	2	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<2	<2	<2	-	<2	<2
Azinphosméthyl	2	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<6	<6	<6	<3	<3	<3
Phosmet	2	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<5	<5	<5	<4	<4	<4
Carbofurane	1	-	<20	-	-	<20	-	-	<20	-	-	<20	-	-	<20	-
Benzo-alpha-Pyrène	3	<1	<1	<1	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6

*Toutes les valeurs sont exprimées en µg/L

1 Environnement Canada (1979)

2 EPA (1979)

3 Federal Register (1979a)

ANNEXE 4
 RESULTATS BRUTS POUR LES HYDROCARBURES VOLATILS
 DES EAUX DES CINQ SITES*

Hydrocarbures	Echantillons par site A, B, C, D et D'				
	A ₃	B ₃	C ₃	D ₃	D' ₁ ou E ₁
Mélange complexe non identifiable	150	-	-	-	75
Chloroforme	-	-	18	-	-
Dichlorométhane	-	-	80	92	<10
Benzène	-	-	-	13	11
Chlorobenzène	-	-	-	-	105
Dichlorobenzène	-	-	-	-	<10
Ethylbenzène	-	-	-	-	30
Trichloroéthylène	-	-	-	<10	-
Toluène	-	-	-	155	-
Xylène	-	-	-	<10	-

* Valeurs en µg/L

ANNEXE 5

RESULTATS BRUTS POUR LA RADIOACTIVITE DES EAUX DES CINQ SITES
(1 à 3 échantillons par site A, B, C, D et D')

Echantillon du site	Radioactivité en cpm* (coups par minute)
A ₃	17
B ₁	21
B ₂	21
C ₁	21
C ₂	22
C ₃	22
D ₁	24
D ₂	24
D ₃	24
D' ₁ ou E ₁	19
D' ₂ ou E ₂	19
D' ₃ ou E ₃	21
Contrôle (hors site)	21
Aquasol	9

* Moyennes de triplicata de comptage (coefficient de variation <15%)

ANNEXE 6

ANALYSES ET TESTS FAITS DANS DIVERS CHAMPS EN VUE DE LA
CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE DES EAUX DES CINQ SITES

par
C. Blaise
Environnement Canada
Service de Protection de l'Environnement
Région du Québec
Laboratoires de Longueuil
1001 Place Pierre Dupuy,
Longueuil, Québec.
J4K 1A1

Caractérisation écotoxicologique
pour l'évaluation des eaux
provenant de sites d'enfouissement

Chapître traitant du travail écotoxicologique réalisé par
le SPE, Environnement Canada.

- Avant-propos
- Notes sur l'échantillonnage

Sections

1. Toxicité avec l'appareil Microtox
2. Toxicité avec l'algue S. capricornutum
3. Etude de dégradabilité
4. Potentiel de bioaccumulation
5. Aspects bactériologiques
6. Mutagénicité (test AMES)
7. Toxicité avec Daphnia pulex
8. Toxicité avec protozoaires (C. Campylum)
9. Sommaire et conclusions
10. Remerciements
11. Références
12. Figures
13. Tableaux

Avant-propos

Suite à une demande provinciale désirant, de la part d'Environnement Canada, une caractérisation biologique et chimique des eaux de lixiviation de certains sites d'enfouissement (dépotoirs) de son territoire, le Service de la Protection de l'Environnement (SPE), d'Environnement Canada, Région du Québec, a donc procédé à la réalisation de cette requête. Au delà d'une simple caractérisation partielle contribuant à l'obtention d'une banque de données à partir de laquelle il est parfois difficile de tirer conclusion, le SPE a voulu, en faisant appel à sa propre expertise régionale, à celle d'autres régions du SPE à travers le pays, ainsi qu'à celle existant régionalement dans les secteurs privés et universitaires, tenter le développement d'une approche écotoxicologique permettant d'évaluer les dangers à l'environnement. Grâce à des fonds régionaux du SPE, Région du Québec, supplémentés par l'entremise du TOXFUND du bureau-chef d'Ottawa, l'étude s'est donc matérialisée et a été confiée à la firme ECO- Recherches Ltée (filiale de la CIL), laquelle a procédé à plusieurs aspects de l'étude grâce à son expertise personnelle ainsi qu'en sous-traitant à certains centres de compétence pour la réalisation d'autres tests spécifiques. Ainsi que mentionné précédemment, le SPE, Région du Québec, a contribué à l'étude par son expertise propre ainsi que par celle lui ayant été offerte par le biais d'autres régions du même Service.

- 1 -

Notes au sujet de l'échantillonnage

Les eaux de lixiviation de quatre sites d'enfouissement (où furent identifiés cinq postes de prélèvement) furent échantillonnées en fonction d'objectifs antérieurement expliqués, durant la période du 22 au 24 février 1982. Deux séries d'échantillons furent prélevés en triplicata. Une première série provenait d'un composé recueilli à partir d'un réservoir de polyéthylène. La deuxième série fut soutirée d'un composé recueilli dans un contenant en verre. Le recueil des composés "verre" et "polyéthylène" séparément fut une tentative visant à répondre à une question d'ordre technique concernant l'échantillonnage; à savoir si le potentiel d'adsorption, particulièrement pour les substances organiques et manifestement plus fort dans le cas d'un contenant en plastique, pourrait amener des différences marquées au niveau des réponses toxiques obtenues pour les bioanalyses et au niveau des quantités de substances toxiques rapportées par l'analyse chimique.

Section 1 Toxicité avec l'appareil Microtox

1.1 Matériel et Méthodes

Nous avons retenu, dans un premier temps, le paramètre de la bioluminescence comme mesure de toxicité envers les prélèvements des cinq sites d'enfouissement. L'analyseur Microtox (Modèle 2055, Toxicity Analyzer System; Beckman Instruments, Inc.), conçu spécifiquement pour emploi avec une souche génétiquement uniformisée de la bactérie marine luminescente Photobactérium phosphoréum, fut utilisé à cette fin selon le mode d'opération indiqué par le fabricant (Operating instructions, 1980).

Réfrigérés à 4°C dès leur prélèvement, les échantillons furent bio-analysés dans les cinq jours qui suivirent. Ensuite, réfrigérés une fois de plus, ceux-ci furent entreposés jusqu'au Jour 65 où l'on effectua une deuxième bio-analyse afin de déterminer l'effet de la conservation des échantillons en fonction de la réponse toxique.

1.2 Résultats

Les résultats des deux séries d'échantillons en triplicata soumis à la bio-analyse Microtox pour les cinq sites aux Jour 0 et Jour 65 figurent au Tableau 1. On notera premièrement qu'aucune différence significative n'apparaît entre les unités toxiques reflétées pour la série d'échantillons provenant ou du composé du contenant en verre ou du composé du contenant en polyéthylène. Malgré la variabilité marquée des six valeurs obtenus pour les deux séries d'échantillons "verre" et "polyéthylène" et ce tant au Jour 0 qu'au Jour 65, on remarquera, en considérant la valeur médiane pour chaque site, qu'un barème de toxicité décroissant s'établit de la façon suivante:

Jour 0 : D>E>A>B>C

Jour 65 : D>E>A>B,C

En se référant à la Figure 1, on se rendra compte également que la deuxième bio-analyse Microtox réalisée après conservation des échantillons à 4°C démontre une diminution de la toxicité au Jour 65 pour les prélèvements des sites A,B,D et E, alors que le site C, pour lequel aucune toxicité initiale n'était observable, n'exhibe aucun changement dans son profil toxique. La perte de toxicité observée suite à l'entreposage indique bien l'importance à tester tout échantillon destiné à l'analyse Microtox dans les plus brefs délais afin d'obtenir une valeur de toxicité réaliste.

1.2 Résultats (suite)

En revenant à la variabilité des valeurs individuelles d'unités toxiques rapportées pour chaque site, il est possible que celle-ci soit imputable au manque d'homogénéisation de l'échantillon. L'agitation manuelle d'échantillons complexes, tels que ces eaux de lixiviation, à laquelle s'ajoute le fait qu'un très petit volume (environ 10 mL) sert à l'analyse Microtox, peuvent expliquer la variabilité qui s'est manifestée au niveau des résultats. En plus, ces échantillons, hétérogènes de nature, ont été analysés directement sans aucun pré-traitement (filtration, par exemple). Ainsi, ces constatations suggèrent qu'une attention spéciale soit apportée aux méthodes bio-analytiques requérant de faibles volumes particulièrement pour des échantillons de nature complexe analysés sans traitement préalable. Quoique d'autres facteurs puissent intervenir, l'homogénéisation serait d'importance capitale, ainsi que semble l'avoir démontré un test de reproductibilité sur un échantillon du site D. Ces résultats, présentés au Tableau 2, sont relativement évidents.

Section 2 Toxicité avec l'algue *Selenastrum capricornutum*

2.1 Matériel et Méthodes

Comme traitement physique précédant l'analyse, chaque échantillon composé en provenance de chaque site fut soumis à une filtration sur membrane de 0.45µ (Gelman GN-6). Les bio-analyses furent du type CI50 et les principales conditions d'incubation des algues se rapprochaient de celles de la USEPA (USEPA, 1979):

inoculum d'algues	1000 cellules/mL
photopériode	24 heures (5,380 lux)
température	24 ± 2°C
agitation manuelle	2 fois par jour

Après une période d'entreposage à 4°C durant 70 jours, les échantillons furent retestés afin d'évaluer l'effet de la conservation sur la toxicité.

2.2 Résultats

Les données bio-analytiques obtenues à l'aide de l'algue *S. capri-*

2.2 Résultats (suite)

cornutum apparaissent au Tableau 3. Tout en se rendant compte de la plus grande sensibilité des algues en comparaison avec les résultats obtenus avec le Microtox pour les échantillons des cinq sites testés, le profil de la toxicité, en ordre décroissant, est le suivant:

D>B>A>E>C

Contrairement aux résultats Microtox, l'effet de l'entreposage des échantillons durant 70 jours est variable selon l'origine de l'échantillon. Ainsi que le démontre le Tableau 3 et la Figure 2, les prélèvements des sites A, C, et E présentent une augmentation de la toxicité après 70 jours. Celui du site B au contraire fait état d'une diminution toxique, alors que celui du site D reste inchangé dans sa manifestation toxique. Quoique basé sur une seule valeur de bio-analyse provenant d'un composé des triplicatas de chaque site, ces quelques données indiquent néanmoins les changements qui se poursuivent lors de l'entreposage au niveau de la toxicité malgré l'élimination théorique de l'activité biologique par la filtration à 0.45µ des échantillons précédant la bio-analyse initiale et l'entreposage subséquent. Il est évident que même filtré, le délai accordé à un échantillon quelconque avant l'entreprise analytique devrait être relativement court pour assurer l'obtention de résultats réalistes.

Section 3 Etude de dégradabilité

3.1 Matériel et Méthodes

Afin de vérifier l'action de dégradation biologique sur les prélèvements des cinq sites à l'aide de la toxicité exprimée par le test Microtox, des composés de 200 litres des séries en triplicata provenant des contenants "polyéthylène" et "verre" furent préparés pour l'essai de dégradation. Les conditions expérimentales pour chaque composé des cinq sites furent les suivantes: on ajouta, 24 heures après la préparation des composés, 1 litre de semence microbienne (mélange de flore originaire d'égouts domestiques)

à chaque réservoir d'essai contenant l'échantillon composé et cette semence fut acclimatée graduellement pour chaque échantillon par un montage "maison" conçu à cet effet; on ajusta l'aération à un débit ≥ 1 L/min; l'essai fut entrepris à une température contrôlée de 15°C avec photopériode de 16 — 8 heures; l'agitation manuelle de chaque réservoir d'essai se fit à tous les 7 jours durant la période de l'essai qui se poursuivit jusqu'à 31 jours. On procéda de façon identique pour le réservoir d'essai té-

3.1 Matériel et Méthodes (suite)

moins, lequel consistait en une eau traitée servant normalement à l'acclimatation des truites arc-en-ciel.

On effectua des tests Microtox aux Jours 0 (avant l'ajout de la semence), 3, 10, 17, 24, 25, et 31. Aux mêmes périodes, on préleva aussi des échantillons destinés à l'estimation quantitative des populations bactériennes psychrophiles (Stokes and Redmond, 1966).

3.2 Résultats

Les données obtenues pour l'essai de dégradabilité des échantillons composés des cinq sites à l'étude apparaissent au Tableau 4. On notera encore une fois, tout d'abord, l'importance de débiter un test Microtox dans les plus brefs délais, alors que l'on peut observer ce qui semble être une différence significative au niveau de la toxicité exprimée par l'échantillon original et par l'échantillon composé pour l'essai de dégradabilité au Jour 0 et ce, pour les sites A et E. Alors que les uns exhibent des unités toxiques de 9.2 et 9.6 respectivement au Jour 0, les autres en démontrent de 4 et 1.9 respectivement. On se rappellera que l'étude de dégradabilité débuta 5 jours après la première bio-analyse Microtox réalisée sur l'échantillon original. Il est évident qu'un tel délai peut occasionner des changements en ce qui a trait à la toxicité originale d'un échantillon.

La toxicité rapportée par le Microtox pour les cinq sites étudiés est reportée sur graphique à la Figure 3. Lors de l'expérience, un suivi du pH a démontré une nette tendance à la hausse de celui-ci durant les 31 jours de l'essai. Basé sur cette constatation, des bio-analyses Microtox furent répétées aux Jours 24, 25, et 31 à pH original et ajusté sur des échantillons des composés des sites A, D, et E pour lesquels un effet toxique évident fut obtenu. En examinant les courbes de toxicité de ces trois sites en fonction du temps, on se rend compte de l'influence des pH élevés sur la toxicité exprimée.

En plus du pH, il n'est pas improbable que les transformations biologiques apportées par l'action de la semence microbienne aient également contribué un effet toxique envers le réactif bactérien de l'appareil Microtox durant certaines périodes temporelles de l'essai. Ainsi, il est difficile de conclure de l'efficacité d'un tel traitement biologique aérobie à diminuer ou à éliminer la toxicité qui serait imputable à des substances toxiques présentes dans ces échantillons d'eaux de lixiviation en se basant exclusivement sur le test Microtox, dont le réactif bactérien est à la merci de toxicités "parasites" apportées par des pH élevés, dans ce cas-ci, et par la semence microbienne (production de toxines, antibiotiques, excrétion de métabolites, etc.) dont nous reparlerons plus loin. Néanmoins, on remarquera en se référant et au Tableau 4 et à la Figure 3, que l'on obtient, pour les sites A, B, D, et E

3.2 Résultats (suite)

exprimant une toxicité initiale au Jour 0, une diminution de la toxicité au Jour 31 lorsque le pH (pour les sites A, D, et E) est réajusté au même niveau qu'il l'était au Jour 0.

D'autres facteurs, en plus de l'action du pH et de l'activité microbienne, peuvent interférer, il semblerait, sur l'interprétation que l'on pourrait apporter afin de conclure de l'efficacité d'un tel système biologique à éliminer l'effet toxique de substances par la dégradation. Ainsi, on se rendra compte, en se référant à l'expérience rapportée au Tableau 5, que la couleur d'un échantillon est une source additionnelle de toxicité "parasite" ainsi que peut l'être une turbidité apportée par des matières en suspension. Dans le cadre de cette courte expérience réalisée sur des échantillons des sites A, D, et E, on se rend compte de l'influence de la couleur dans les trois cas, ainsi que de l'effet turbidité, ce dernier étant particulièrement dramatique en ce qui a trait à l'échantillon du site D. Mentionnons qu'à l'effet turbidité peut s'ajouter un effet d'adsorption sur le filtre membraneux de la (ou des) substance(s) occasionnant une réponse toxique au Microtox.

Un suivi des populations bactériennes psychrophiles, principaux agents de biodégradation à l'oeuvre au sein du système biologique aérobie conçu pour l'essai de dégradabilité, fut réalisé au cours de l'expérience. Celles-ci furent estimées quantitativement selon la technique décrite par Stokes et Redmond, 1966. Le profil quantitatif de ces psychrophiles obtenu au cours du test apparaît au Tableau 6. Ces mêmes données sont reportées à la Figure 4, à laquelle apparaissent également les courbes de toxicité acquises avec le Microtox. On remarquera premièrement, pour les échantillons des sites A, B, D, et E, que la semence ajoutée au Jour 1 du test semble avoir démontré une croissance exponentielle rapide, avec des pics maximums atteints entre le Jour 3 et le Jour 10. Ainsi, on peut supposer l'utilisation rapide de substrats biodégradables par les bactéries psychrophiles ensemencée pour ces échantillons. Ceci ne fut pas le cas pour l'échantillon du site C, pour lequel l'ajout sementiel n'a guère varié beaucoup plus que le contrôle. A noter également, postérieures à des chutes intermédiaires de densités bactériennes, une "reprise" de deuxième croissance exponentielle pour les échantillons des sites A (du jour 17 à 45), D (Jour 17 à 24), et E (Jour 24 à 45). Ceci pourrait s'expliquer par l'attaque de nouveaux substrats dégradables par action bactérienne suite à une synthèse et mobilisation de nouvelles enzymes suite à la première vague exponentielle de croissance. Il semblerait ainsi que le pouvoir biodégradeur, dans le cas d'eaux résiduaires complexes comme celles-ci, pourrait fort bien se poursuivre durant une période relativement prolongée, bien au delà des 31 jours prévus pour cette expérience, jusqu'à ce que l'action bactérienne ait épuisé toutes ses ressources et possibilités.

3.2 Résultats (suite)

Peut-on apercevoir une relation, pour ces cinq sites, entre la toxicité rapportée par le Microtox et l'action de la semence? A la lumière des données rapportées à la Figure 4, on peut dresser un certain portrait de ce qui a pu se passer pour chacun de ces sites lors de l'essai de dégradabilité:

- Site A: La semence croît, plafonne entre les jours 3 et 10, pour chuter ensuite au Jour 17, et effectuer une reprise par la suite. La montée toxique de cet échantillon jusqu'au Jour 17 pourrait être imputable aux excréments métaboliques des cellules bactériennes lors de leurs poussée exponentielle et à leurs lyses subséquentes (phase de mortalité entre les Jours 10 et 17) ainsi qu'à une plus grande sensibilité de la part du réactif Microtox à la présence de produits toxiques intermédiaires résultant de l'action biologique sur les substances toxiques initiales. Résultat net à la fin du test (Jour 31): réduction de la toxicité initiale.
- Site B: La semence croît, plafonne, chute, pour ensuite démontrer une stabilité qui se maintiendra jusqu'au Jour 45. Les données toxiques nous ont indiqué que la faible toxicité initiale de cet échantillon (1.3 U.T.) est rapidement disparue dès le Jour 3 de l'essai.
- Site C: La semence exhibe une très courte et relativement insignifiante croissance exponentielle entre le Jour 1 et 3, pour ensuite exhiber un profil très semblable au contrôle. Ceci suggère la pauvreté en substrats biodégradables de cet échantillon. N'ayant pu, au départ, démontrer une valeur de toxicité aiguë mesurable par le test Microtox pour cet échantillon, aucune comparaison toxicité/dégradabilité n'est possible.
- Site D: La semence exhibe une croissance exponentielle rapide qui plafonne au Jour 3, chute, et reprend (Jour 24), et rechute. La détoxification rapide de cet échantillon qui coïncide avec la forte poussée initiale de la semence (Jour 3) semblerait indiquer une action réelle de dégradation des substances toxiques présentes dans l'échantillon. La remontée partielle de la toxicité aux Jours 10, et 17 peut être due aux métabolites produites par la croissance bactérienne. Résultat net à la fin du test (Jour 31): réduction marquée de la toxicité initiale.
- Site E: La semence croît exponentiellement jusqu'au Jour 10, baisse (Jour 17) pour ensuite augmenter constamment jusqu'au Jour 45.

3.3 Résultats (suite)

La faible toxicité initiale de cet échantillon (1.9 U.T.) ne subit que de très légères variations tout au long de l'expérience de dégradabilité pour clôturer à 1.3 U.T. au Jour 31. Il semblerait ici que la croissance bactérienne n'ait nullement agi sur la (les) substance (s) occasionnant la toxicité initiale mise en évidence par le test Microtox. Nous pouvons donc envisager la présence de substance (s) refractaire (s) à la dégradation dans cet échantillon.

Section 4 Potentiel de bioaccumulation

4.1 Matériel et Méthodes

On a voulu, dans le cadre de cette étude, évaluer le potentiel de bioaccumulation des eaux de lixiviation des cinq sites sous étude par le biais d'un test, encore au stage expérimental, développé récemment à nos laboratoires.

L'essai consiste à exposer une population d'algues en phase de croissance logarithmique dans l'échantillon liquide pour une durée déterminée à l'avance. Les algues sont ensuite recueillies, brisées, et un test Microtox est effectué sur le lysat. Parallèlement, on réalise un autre test Microtox sur le prélèvement étudié et son potentiel de bioaccumulation est alors évalué en considérant les résultats des deux tests (Blaise et collègues, 1982).

4.2 Résultats

Les données obtenues pour l'essai du potentiel de bioaccumulation apparaissent au Tableau 7. Conscients que l'efficacité de bioaccumulation des algues varie selon la concentration présente de substances dans l'échantillon auxquelles elles sont confrontées (Cherry and Guthrie, 1977; Rai et collègues, 1981), nous avons choisi, de façon quelque peu aléatoire, de tester aux concentrations 50% et 25% des échantillons. Sans exception, les résultats démontrent un plus fort potentiel de bioaccumulation lorsque le test est entrepris à 25%, alors qu'il est moindre ou inexistant pour le test entrepris à 50%. Ainsi qu'allégué plus tôt à la section 4.1, cet essai, encore expérimental, fera l'objet d'une mise au point beaucoup plus fondamentale à l'avenir. Néanmoins, à la lumière de travaux récents non-publiés pour ce test, nous suspectons que les potentiels de bioaccumulation mis en évidence pour ces échantillons refléteraient une accumulation de nature organique.

4.2 Résultats (suite)

On remarquera aussi au Tableau 7 les résultats obtenus du potentiel de bioaccumulation (P.B.) pour les échantillons biodégradés suite à l'essai de dégradabilité de 31 jours entrepris. Alors que les échantillons des sites B et E semblent indiquer une réduction du P.B. après avoir été soumis au test de dégradabilité, l'inverse est observable dans le cas des échantillons des sites C et D qui accusent une augmentation du P.B. Quant à l'échantillon du site A, aucun changement au niveau du P.B. n'est survenu.

Section 5 Aspects bactériologiques

5.1 Matériel et Méthodes

Afin d'obtenir des renseignements relatifs à la contamination bactérienne des sites d'enfouissement à l'étude par des sources fécales de pollution, nous avons procédé à la détermination quantitative ou qualitative des indicateurs suivants:

<u>Indicateur</u>	<u>Signification sanitaire re- liée à:</u>	<u>Type d'étude</u>	<u>Référence métho- dologique</u>
Coliformes totaux	santé humaine	quantitative	Standard Methods
Coliformes fécaux	santé humaine	quantitative	Standard Methods
Streptocoques fécaux	santé humaine	quantitative	Standard Methods
Bactéries hétéro- trophes, 20°C et 35°C	santé humaine	quantitative	Standard Methods
<u>Salmonella</u>	santé humaine	qualitative	Tennant et al.
<u>Ps. aeruginosa</u>	santé humaine et ichthyenne	quantitative	Tennant et al.
<u>A. hydrophila</u>	santé ichthyenne	quantitative	Shotts and Rimler
Multirésistance	santé humaine	antibiogramme	selon méthode dé- crite par Tennant et al.

5.2 Résultats

Les données bactériologiques obtenues pour les cinq sites étudiés sont rapportées au Tableau 8. A la lumière de ces résultats, les commentaires suivants peuvent être émis pour chacun de ces sites:

Site A: Les indicateurs classiques (C.T., C.F., S.F.) indiquent une faible présence de contamination fécale de l'échantillon, principalement par l'entremise des S.F. En plus, la proportion CF/SF indiquerait une source d'origine animale, plutôt qu'humaine (Geldreich and Kenner, 1969), cette constatation devant être considérée cependant avec prudence étant basée sur une seule prise ponctuelle d'échantillons durant la période hivernale. A ceci s'ajoute la probabilité que la source pollutionnelle n'est pas constante, mais a eu lieu dans un passé plus ou moins éloigné (Grabow, 1970). La présence de BH indique une certaine biodégradation naturelle des eaux de ce site, alors que plus de 90%, si l'on réalise le calcul (Stokes & Redmond, 1966), des BH sont des psychrophiles. La présence significative du germe Ps. aeruginosa plus en plus reconnu en tant que pathogène humain (Santos Ferreira, 1977) peut être liée à la source de pollution fécale, ou à d'autres routes de transmission. L'environnement fluide du dépotoir pourrait également servir de milieu de culture pour cet organisme en lui permettant d'y proliférer.

Site B: Les indicateurs classiques démontrent une virtuelle absence de source fécale de contamination; ceci toujours en considérant la prudence qui s'impose lorsque l'on évalue une seule et unique prise temporelle d'un site. Cette première observation semble bien se confirmer par la densité des BH qui, tout en indiquant une certaine activité bactérienne naturelle pour les eaux de ce dépotoir, sont majoritairement des psychrophiles. L'échantillon démontre également une certaine présence du genre Ps. aeruginosa.

Site C: Le profil bactériologique des eaux échantillonnées de ce dépotoir est très semblable à celui obtenu pour le site A, à l'exception de la proportion CF/SF qui tend plutôt à démontrer une source de pollution fécale d'origine animale (Geldreich and Kenner, 1969).

Site D: Rien, à l'exception peut-être des très faibles densités rapportées pour Ps. aeruginosa, ne semble indiquer une source de contamination fécale pour les eaux prélevés de ce dépotoir. Globalement, les données tendent à démontrer que l'environnement liquide de ces eaux de dépotoir est relativement abiotique, pour les bactéries tout au moins.

5.2 Résultats (suite)

Site E: Ici encore, à la lumière des paramètres bactériologiques considérés, l'échantillon analysé de ce site offre un portrait qui se rapproche de très près à celui du site A.

Notons enfin que pour les cinq sites, la recherche quantitative du pathogène ichthyen A. hydrophila et qualitative du genre Salmonella s'est révélée négative. Par contre, lors du cheminement d'identification biochimique des salmonelles par l'entremise du système API, nous avons mis en évidence 54 souches bactériennes isolées à partir d'échantillons des sites A, C, et E appartenant au groupement Proteus/Providence (famille des entérobactéries, tribue Proteae). Quoique les représentants de ce groupement ne soient pas considérés hautement pathogènes, ils ont déjà été impliqués, par le passé, dans des cas de gastroentérite et d'infection urinaire. Le fait que ces germes soient d'origine intestinale entérine d'avantage les constatations déjà rapportées plus haut pour ces trois mêmes sites, c'est à dire, A, C, et E. Nous avons par la suite évalué la multi-résistance de ces germes face à 8 antibiotiques couramment utilisés à combattre les infections dues aux bactéries à Gram négatif (Oxoid Multo-disks 6566E). Le tableau 9 consiste en un sommaire partiel des résultats obtenus. On peut constater que la résistance des souches a démontré une variation allant de 0 à 5 pour les 8 antibiotiques testés. On remarquera également que les germes les plus multi-résistants sont originaires de l'échantillon du site A. Basé sur le fait que l'on reconnaisse la présence de plasmides chez les germes qui exhibent normalement une résistance à 3 antibiotiques (puisque cela dépasse virtuellement toute probabilité d'une mutation chromosomique spontanée), on aurait alors une résistance plasmidique chez 100%, 38.5%, et 25% des souches isolées des sites A, C, et E respectivement.

Section 6 Mutagénicité (test AMES)

6.1 Matériel et Méthodes

Le test AMES de mutagénicité fut réalisé en utilisant la méthode d'incorporation en boîte Pétri des échantillons étudiés selon la procédure employée par le laboratoire de microbiologie du Service de la Protection de l'Environnement, d'Environnement Canada, Région du Nord-ouest, à Edmonton. Tous les échantillons furent filtrés à travers une membrane de 0.22 µ avant la bio-analyse. Six différentes souches mutantes de Salmonella typhimurium ont été utilisées afin de mettre en évidence un effet mutagénique des échantillons. Celles-ci, dénommées par code numérique, sont indiquées au Tableau 10.

6.2 Résultats

L'imprimé de l'ordinateur qui nous a été transmis par la Région du Nord-ouest, laquelle a gracieusement collaboré à la réalisation de cette partie du travail à notre demande, a clairement démontré l'absence de mutagénicité pour les échantillons des sites A, C, D, et E lorsque ceux-ci furent soumis au test AMES. Les échantillons prélevés en triplicata pour le site B, par contre, ont tous trois induit un effet mutagénique envers certaines des souches mutantes, selon le patron décroissant suivant: B-1 > B-2 > B-3. Les principales données en provenance d'Edmonton ont été retranscrites aux Tableaux 10(a), 10(b) et 10(c), lesquels résument la mutagénicité observée pour les prélèvements B-1, B-2, et B-3 respectivement. Il est curieux de constater le manque d'uniformité dans la réponse mutagénique obtenue pour trois échantillons en triplicata prélevés d'un même composé. Cela suggère une fois de plus, tout comme semble l'avoir démontré la variabilité de certains résultats au Microtox, la nature hétérogène de ces eaux de lixiviation. A ceci s'ajoute une cause additionnelle de variabilité des résultats qui peut être reliée à la petitesse du volume d'échantillon utilisé pour la réalisation du test AMES.

Section 7 Toxicité avec Daphnia pulex

7.1 Matériel et Méthodes

Les tests de toxicité sur daphnies ont également été effectués par la Région du Nord-ouest du Service de la Protection de l'Environnement, d'Environnement Canada, dont les laboratoires sont situés à Edmonton en Alberta. La procédure employée pour la réalisation des bio-analyses CI50 - 4 jours en utilisation par cette Région est incluse en annexe à la fin de ce rapport, (voir "Culture and toxicity testing methods using Daphnia pulex at the aquatic toxicology laboratory (ATL), EPS, Northwest Region"). Quant à la procédure utilisée en ce qui a trait aux tests d'immobilité de 14 jours et d'inhibition de la reproduction, il s'agissait d'une version modifiée de ces deux tests telle que décrite dans: "O.E.C.D. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems". Cette procédure est également incluse en annexe. Notons que tous les échantillons subirent une filtration (0.45µ) dès leur réception à Edmonton et furent par la suite réfrigérés à 6°C avant l'entreprise des bio-analyses.

7.2 Résultats

Le test subléta aigu classique (CI₅₀-4 jours) fut tout d'abord effectué sur les échantillons originaux en triplicata pour les cinq sites. Les résultats, figurant au Tableau 11, démontrent une toxicité relative pour les cinq sites qui décroît selon l'ordre suivant:

$$A > D, E > B > C$$

Basé sur ces premiers résultats d'échantillons dont l'analyse fut réalisée le 15/4/82, soit presque deux mois après la période de prélèvement dans les différents dépotoirs, on sélectionna une série de concentrations appropriées pour réaliser deux genres de bio-analyses du type subléta chronique en plus du test subléta aigu de 4 jours. Celles-ci, comme on pourra le constater, furent réalisées sur des échantillons composés de chaque site (Tableau 12). L'examen des toxicités relatives révèle des variations dans la réponse toxique obtenueselon que l'on considère les trois types de tests réalisés sur les échantillons composés ou que l'on compare les CI₅₀ - 4 jours obtenues d'une part, à partir de la première série d'analyses réalisée sur les échantillons en triplicata le 15/4/82 et d'autre part à partir de la deuxième série d'analyses réalisée sur les échantillons composés durant la période du 26/5/82 au 9/6/82. On se référera au Tableau 13 pour mieux visualiser la réalité des commentaires précédents. Alors que la variation des toxicités relatives obtenues durant les essais réalisés pour la période du 26/5/82 - 9/6/82 peut s'expliquer de par les variantes et objectifs différents des tests eux-mêmes, celle survenue pour le test d'immobilité de 4 jours réalisé aux deux périodes analytiques différentes pourrait être vraisemblablement liée à un effet d'entreposage, alors qu'un délai de plus d'un mois s'intercale entre les deux périodes d'analyses. Ainsi, on remarquera une augmentation de la toxicité de l'échantillon composé du site B avec le temps, alors que l'inverse se vérifie dans le cas de l'échantillon composé du site D. Echappant cependant à toute variation toxique est l'échantillon du site A qui maintient constamment son rang au niveau de la plus forte toxicité exprimée.

Section 8 Toxicité avec protozoaires

8.1 Matériel et Méthodes

Grâce à un stage de formation ayant eu lieu au Laboratoire d'Ecotoxicologie des Protozoaires, Unité INSERM 146, Institut Pasteur, Lille, France, coïncidant temporellement avec la période analytique sur les cinq sites d'enfouissement, il nous a été possible

d'évaluer la toxicité de trois (sites A, D, et E) de cinq échantillons composés par une méthode utilisant des protozoaires ciliés. Cette méthode a permis de mesurer l'inhibition de la croissance de Colpidium campylum Stokes (un protozoaire cilié).

Le principe du test repose sur la détermination de la concentration de l'échantillon qui, après 24 heures de contact, diminue de façon statistiquement significative le nombre de génération obtenu dans les cultures de Colpidium campylum par rapport à un témoin (Dive et Leclerc, 1975). Cette concentration est appelée Dose Minimale Active de l'échantillon vis à vis de l'organisme testé. Par le biais du même type d'essai, il est possible d'obtenir une valeur de CI50 également.

8.2 Résultats

Les résultats de toxicité obtenus avec C. campylum sont présentés au Tableau 14. Ceux-ci démontrent la sensibilité relativement marquée de l'organisme envers les échantillons avec lesquels il a été mis en contact. L'indice de la DMA semble indiquer la très haute susceptibilité de ce protozoaire, particulièrement en ce qui a trait à l'échantillon du site A. Ceci présente beaucoup d'intérêt au niveau écologique, quoique l'interprétation à y apporter, sans données additionnelles, reste pour le moins très délicate. A noter qu'encore une fois l'échantillon A s'avère le plus toxique, comme cela a déjà été rapporté avec d'autres indicateurs biologiques.

Section 9 Sommaire et conclusions

De l'approche écotoxicologique retenue pour l'étude des cinq sites d'enfouissement industriel se dégage une foule de renseignements aussi bien reliés à l'échantillonnage, l'analyse, et la méthodologie qu'à la caractérisation biologique des dépotoirs eux-mêmes. Les prélèvements uniques réalisés dans le cadre de cette étude ne nous auront pas permis, parmi les divers points intéressants soulevés, d'expliciteren détail les lacunes qui sont parfois intervenues à certains niveaux du travail afin d'y préciser une approche définitive pour d'autres missions semblables. Néanmoins, il sera possible, à partir des multiples données mise à jour par cet exercice, d'améliorer et de proposer un plan d'action qui servira mieux, à l'avenir, la cause environnementale pour des études de ce genre. Les remarques suivantes découlent donc des constatations les plus évidentes qui ressortent des différentes sections décrivent dans ce chapitre.

9.1 Considérations techniques (échantillonnage, analyses, méthodes).

9.1.1 Type de contenant pour le recueil des échantillons.

Les résultats des tests Microtox réalisés à partir d'échantillons prélevés dans des contenants en verre et en polyéthylène n'ont pas permis de démontrer des différences significatives au niveau de la réponse toxique obtenue pour les cinq sites étudiés. Le phénomène d'adsorption préférentiel de substances organiques par des contenants aux parois plastiques par rapport à des contenants de verre n'a donc pu être mis en évidence. Les raisons suivantes sont offertes comme tentative d'explication:

- 1) La toxicité qui s'est manifestée par le test Microtox n'était pas de nature organique;
- 2) Les composantes organiques des échantillons, si celles-ci ont été responsable d'une toxicité détectée par l'appareil Microtox, n'étaient pas de nature à s'adsorber plus aux parois de plastique qu'aux parois de verre.

Ainsi, en ce qui a trait à la logistique concernant l'échantillonnage, la problématique du type de contenant semblerait plaider en faveur d'un contenant en plastique pour des raisons pratiques. Néanmoins, nous ne jugeons pas que la question ait été nettement tranchée, vu le peu de données sur lesquelles une telle recommandation serait basée.

9.1.2 Effet de conservation des échantillons sur la toxicité

Plusieurs indices ont révélé un effet marqué de la conservation des échantillons sur l'expression toxique, et ce, tout aussi bien au niveau d'une augmentation que d'une diminution avec le temps d'entreposage. Pour constater l'effet mis en évidence par le test Microtox, on se référera aux Tableaux 1 et 4; pour le test avec algues, au Tableau 3; pour le test avec daphnies, au Tableau 13. De ces constatations ressortent bien l'importance de maintenir le délai analytique à un minimum, particulièrement pour les échantillons qui ne subissent aucun pré-traitement. Même après filtration, cependant, d'importantes variations semblent pouvoir se produire avec le temps pour certains échantillons. Des études additionnelles, visant exclusivement à définir un facteur temporel réaliste afin de fixer un délai analytique approprié pour de tels échantillons, devraient être envisagées à l'avenir.

9.1.3 Homogénéité des échantillons pour les micro-techniques

Certaines données, obtenues notamment par l'entremise du test Microtox, ont démontré une variabilité marquée qui semble liée à l'hétérogénéité des échantillons testés et aux micro-volumes utilisés pour la réalisation des bio-analyses. Les résultats du Tableau 1 (toxicité des cinq sites envers le Microtox) reflètent ce phénomène de variabilité, alors que ceux du Tableau 2 (méthodes de mélange d'un échantillon) semblent bien indiquer que celle-ci est due à l'inefficacité d'un mélange manuel d'échantillons complexes du type étudié en vue du micro-essai envisagé. La variabilité obtenue au niveau de la réponse mutagénique pour les échantillons B-1, B-2, et B-3 (Tableaux 10(a), 10(b), 10(c)) pourrait logiquement s'expliquer de façon analogue car, ici aussi, de petits volumes ont été utilisés pour cette bio-analyse. Ainsi, l'élaboration d'une procédure d'homogénéisation d'échantillons liquides complexes compatible avec la réalisation de micro-tests utilisant de petits volumes devrait être envisagée.

9.1.4 Considérations pour l'entreprise d'essais futurs de dégradabilité

En général, le test de dégradabilité (traitement biologique aérobie), tel que conçu pour l'étude des sites d'enfouissement, a démontré une baisse de la toxicité initiale des échantillons, laquelle fut mise en évidence par le test Microtox. Certaines réserves, cependant, sont de rigueur, car il serait présomptueux d'affirmer qu'il y ait bel et bien eu, dans tous les cas, une véritable bio-dégradation de substances toxiques responsables de la toxicité initiale, puisque certaines toxicités "parasites" ont pu interférer envers le réactif bactérien du Microtox. Rappelons, parmi ceux mentionnés, les effets du pH, de la turbidité des matières en suspension, de la couleur, et de métabolites toxiques produits par l'activité de la semence bactérienne. A la lumière des résultats obtenus, de futurs tests de dégradabilité évalués en fonction du Microtox devront tenir compte de ces interférences et s'assurer des modalités expérimentales suivantes afin d'être en mesure de mieux interpréter en fonction de l'efficacité du système à dégrader des substances toxiques:

- 1) Débuter le test de dégradabilité dans un délai très court (maximum: 48 heures après le prélèvement) afin de minimiser toute modification de l'échantillon;
- 2) Aux intervalles prévus, réaliser des tests Microtox: à pH original et ajusté; sans correction et avec correction d'un effet couleur potentiel de l'échantillon; sur l'échantillon non-filtré et filtré; en effectuant un suivi quantitatif de psychrophiles; en faisant durer le

9.1.4 (suite)

test de dégradabilité au delà de 45 jours (temps exact à déterminer par des études futures), étant donné le phénomène de la double croissance exponentielle ("diauxic growth") qui s'est manifesté dans certains cas après les 31 jours prévus pour l'essai de dégradabilité et qui suppose un travail inachevé de transformation des composantes des échantillons par la flore microbienne;

- 3) Il serait également essentiel d'effectuer un suivi d'un essai de dégradabilité avec au moins un autre indicateur biologique représentatif.

9.2 Considérations sur la caractérisation biologique.

9.2.1 Toxicités relatives des différents indicateurs biologiques envers les cinq sites étudiés.

Les toxicités relatives des quatre indicateurs biologiques décrits dans ce chapitre envers les cinq sites étudiés sont rapportées au Tableau 15. Celui-ci, tout en faisant ressortir la toxicité généralement plus accentuée qui s'est manifestée au niveau des échantillons des sites A, D, et E, démontre également que chaque indicateur biologique réagit différemment dans sa réponse toxique envers un site donné. Ce point est capital et confirme bien le principe d'utiliser plusieurs organismes indicateurs lors d'études visant à évaluer un impact environnemental quelconque. Ceci rejoint bien, en plus, la philosophie émise par différents organismes normatifs (ISO, OCDE, ASTM) qui préconisent une telle approche écotoxicologique.

Sur le plan de la sensibilité, on se rendra compte, en référant au Tableau 16, que les représentants des algues et des protozoaires arrivent au premier plan lorsque l'on dresse leur bilan toxique total en unités toxiques pour les cinq sites étudiés. Viennent ensuite *Daphnia pulex* et *Photobactérium phosphoréum* en tant que représentants respectifs des groupes crustacés et bactériens.

9.2.2 La toxicité relative des cinq sites d'enfouissement étudiés.

Basé sur les quatre indicateurs biologiques retenus pour évaluer le paramètre de la toxicité, nous avons pu, par l'entremise d'un système de rang, estimer la toxicité relative des cinq sites étudiés (Tableau 17). Par cette méthode, il appert clairement que les sites A, D, et E se sont avérés les plus toxiques. En contraste, le site B exhiba une toxicité de beaucoup réduite alors que le site C sembla être peu ou nullement toxique.

9.2.3 Les problèmes environnementaux relevés aux différents sites

Le Tableau 18 fait état des divers problèmes environnementaux relevés pour les cinq sites d'enfouissement en fonction des différents paramètres traités dans ce chapitre. On pourra constater et apprécier la valeur que représente l'approche écotoxicologique expérimentale utilisée pour cette étude, alors qu'elle permet de cerner les différents types de dangers pouvant avoir un impact sur les milieux aquatique, terrestre, et même atmosphérique associés à ces dépotoirs. Ce n'est qu'à partir de telles connaissances globales que pourront découler les solutions qui permettront d'instaurer les moyens d'épuration visant l'obtention d'un niveau de protection environnementale acceptable pour les divers sites d'enfouissement en existence.

Section 10 Remerciements

L'initiative, la volonté, l'intérêt, et la polyvalence de Richard Legault (technicien sénior en biologie, Laboratoires Capitaine Bernier, SPE, Environnement Canada, Région du Québec) ont été hautement appréciées pour la réalisation analytique des tests sur Microtox et algues. Sa collaboration aux multiples analyses associées à l'étude de dégradabilité, dont le système d'essai fut conjointement conçu avec Norman Bermingham (Chef des laboratoires du SPE, Région du Québec), est également reconnue. Enfin, nous reconnaissons sa participation commune avec Christian Blaise, (Microbiologiste, SPE, Région du Québec) pour la réalisation analytique de l'aspect bactériologique lié à l'étude.

Pierre Chevalier, stagiaire aux Laboratoires du SPE durant la période de l'étude, réalisa les tests portant sur le potentiel de bioaccumulation.

C'est avec une grande appréciation que nous reconnaissons la participation à cette étude de nos collègues du SPE, Région du Nord-ouest, alors que Art Beckett (Biologiste, Laboratoire de toxicité aquatique, Edmonton, Alberta) et son équipe technique entreprirent les bio-analyses sur daphnies et que Jim Bell (Microbiologiste, Laboratoire de Microbiologie, Edmonton, Alberta) et son équipe technique réalisèrent les tests AMES sur les échantillons des cinq dépotoirs.

Dernièrement, et non la moindre, nous témoignons une appréciation spéciale à notre collègue français, Daniel Dive (I.N.S.E.R.M., Lille, France) par l'entremise duquel il nous a été possible d'évaluer la

toxicité sur protozoaires de trois des cinq sites étudiés.

Le SPE, Région du Québec, Environnement Canada, tient également à remercier vivement Monsieur Dive pour la gracieuse invitation offerte à Christian Blaise qui a permis à ce dernier d'effectuer un stage de formation aux Laboratoires de l'INSERM à Lille, France, en mars 1982, portant sur certaines techniques écotoxicologiques utilisant des protozoaires.

Section 11 Références

- American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 15th Edition, A.P.H.A., Washington DC, 1980.
- Blaise, C., B. Ska, G. Sabatini, N. Bermingham, et R. Legault. 1982. Potentiel de bioaccumulation de substances toxiques d'eaux résiduelles industrielles à l'aide d'un essai utilisant des algues et des bactéries. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci (sous presse).
- Cherry, D.S., and R.K. Guthrie. 1977. Toxic metals in surface waters from coal ash. Water Resources Bull. 13 (6): 1227-1236.
- Dive D., et H. Leclerc. 1975. Standardized test method using Protozoa for measuring water pollutant toxicity. Progress in Water Technology 7 (2), 67-72.
- Geldreich, E.E., and B.A. Kenner. 1969. Concepts of fecal streptococci in stream pollution. J. Water Pollution Control Fed. 41 : 336-352.
- Grabow, W.O.K., 1970. Literature survey: the use of bacteria as indicators of faecal pollution in water. CSIR Special Report O/WATL, Pretoria, South Africa. 27p.
- Operating Instructions, 1980. Microtoxtm. Toxicity analyzer, Model 2055, Interim Manual No. 110679, Beckman Instruments, Inc.
- Rai, L.C., J.P. Gaur, and H.D. Kumar. 1981. Phycology and heavy metal pollution. Biol. Rev. 56: 99-151.
- Santos Ferreira, M.O. 1977. Marqueurs épidémiologiques de Pseudomonas aeruginosa. Leur application à l'étude des infections hospitalières au Portugal, Thèse de Doctorat d'Etat es-sciences pharmaceutiques, présentée à l'Université de Paris-Sud, Série E. No. 69.
- Shotts, E.B., and R. Rimler, 1973. Medium for the isolation of Aeromonas hydrophila. Appl. Microbiol. 26: 550-553.
- Stokes, J.L., and M.L. Redmond. 1966. Quantitative ecology of psychrophilic microorganisms. Appl. Microbiol. 14: 74-78.
- Tennant, A., R. Toxopeus, J.A.P. Bastien, M. Beauchamp, and J. Wandevint, 1975. Salmonella in poultry packing plant effluents, Laboratory Services, Ontario Region, Environment Canada, Report EPS 4-OR-75-1.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1978. The Selenastrum capricornutum Printz algal assay bottle test: Experimental design, application, and data interpretation protocol. USEPA, Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon 97330, EPS-600/9-78-018, 126p.

FIGURE 1 Effet de la conservation des échantillons sur la toxicité au Microtox

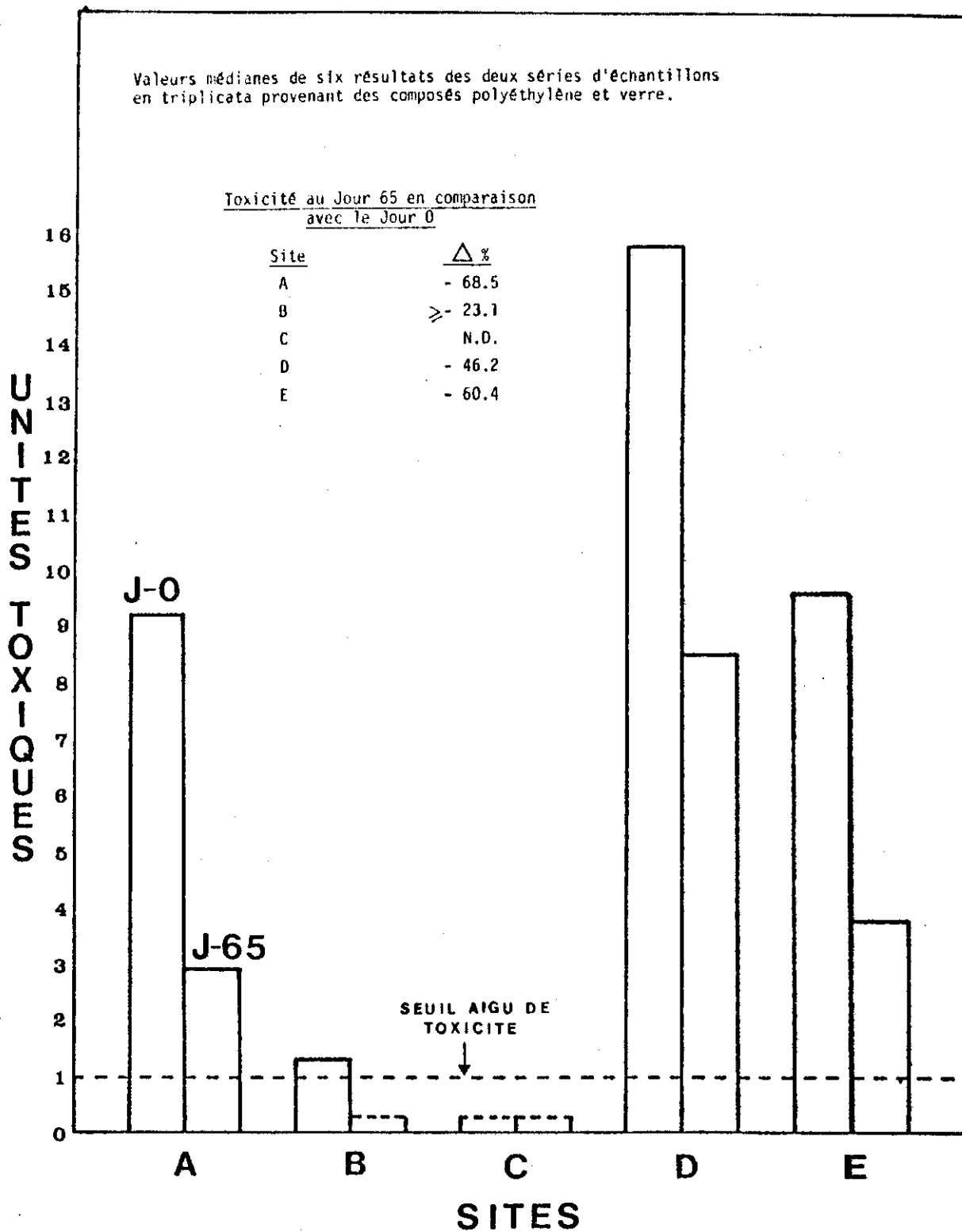


FIGURE 2 Effet de la conservation des échantillons sur la toxicité envers les algues

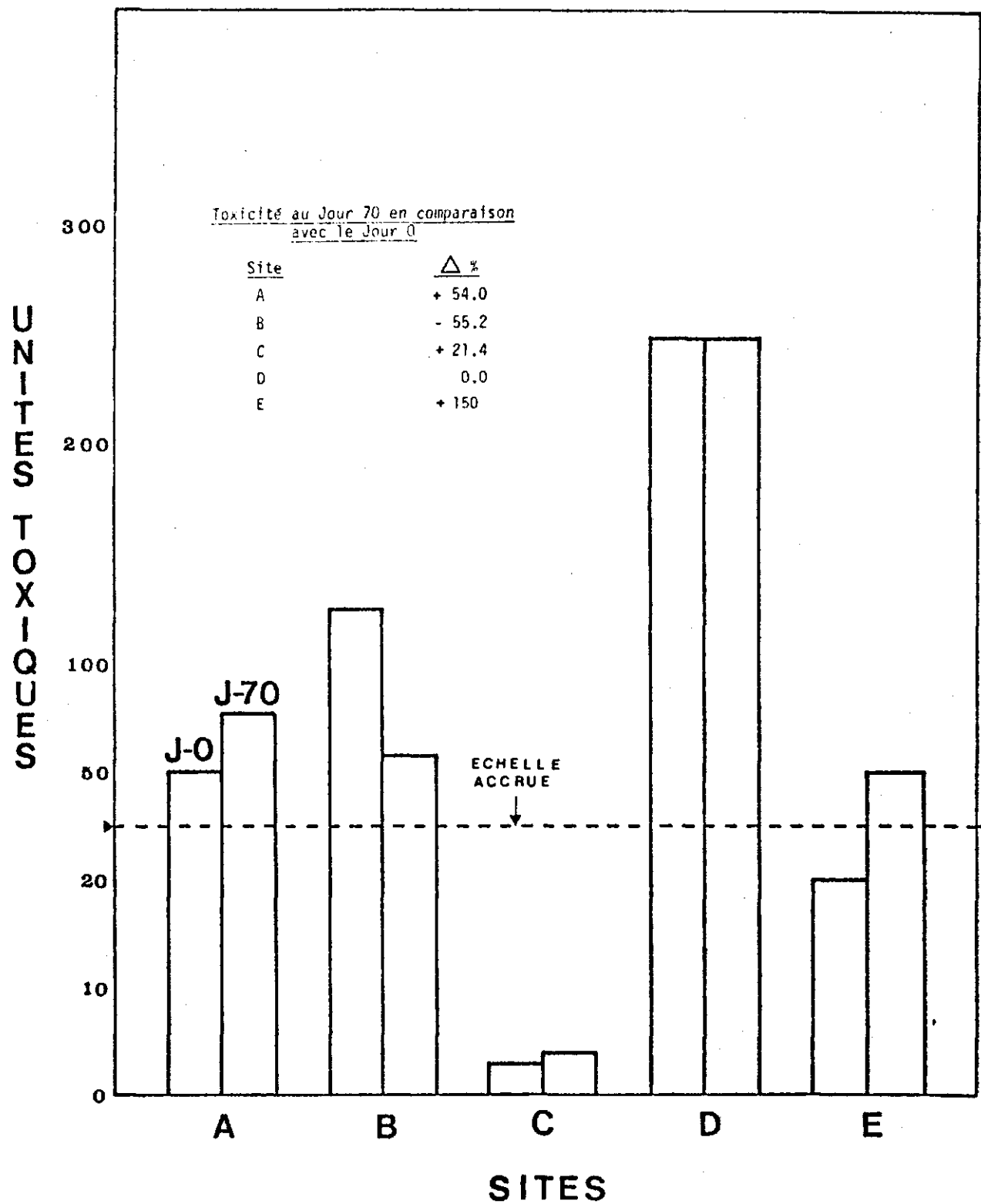


FIGURE 3 Etude de dégradabilité: Relation de la toxicité du Microtox pour les cinq sites étudiés en fonction du temps de l'essai de dégradation et effet du pH sur cette toxicité.

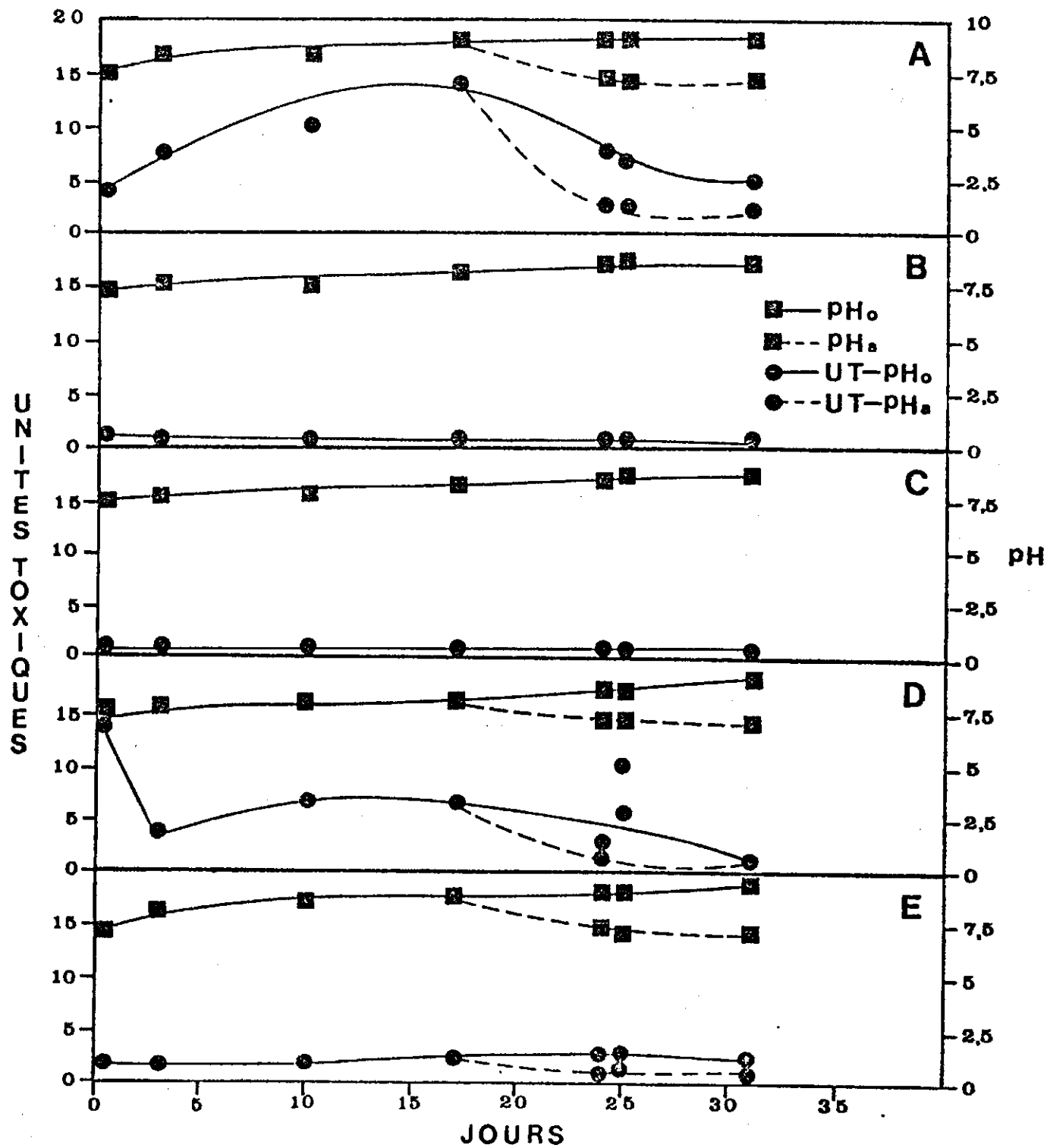


FIGURE 4 Etude de dégradabilité: Relation de la toxicité du Microtox pour les cinq sites étudiés en fonction du temps de l'essai de dégradation et la densité des populations psychrophiles

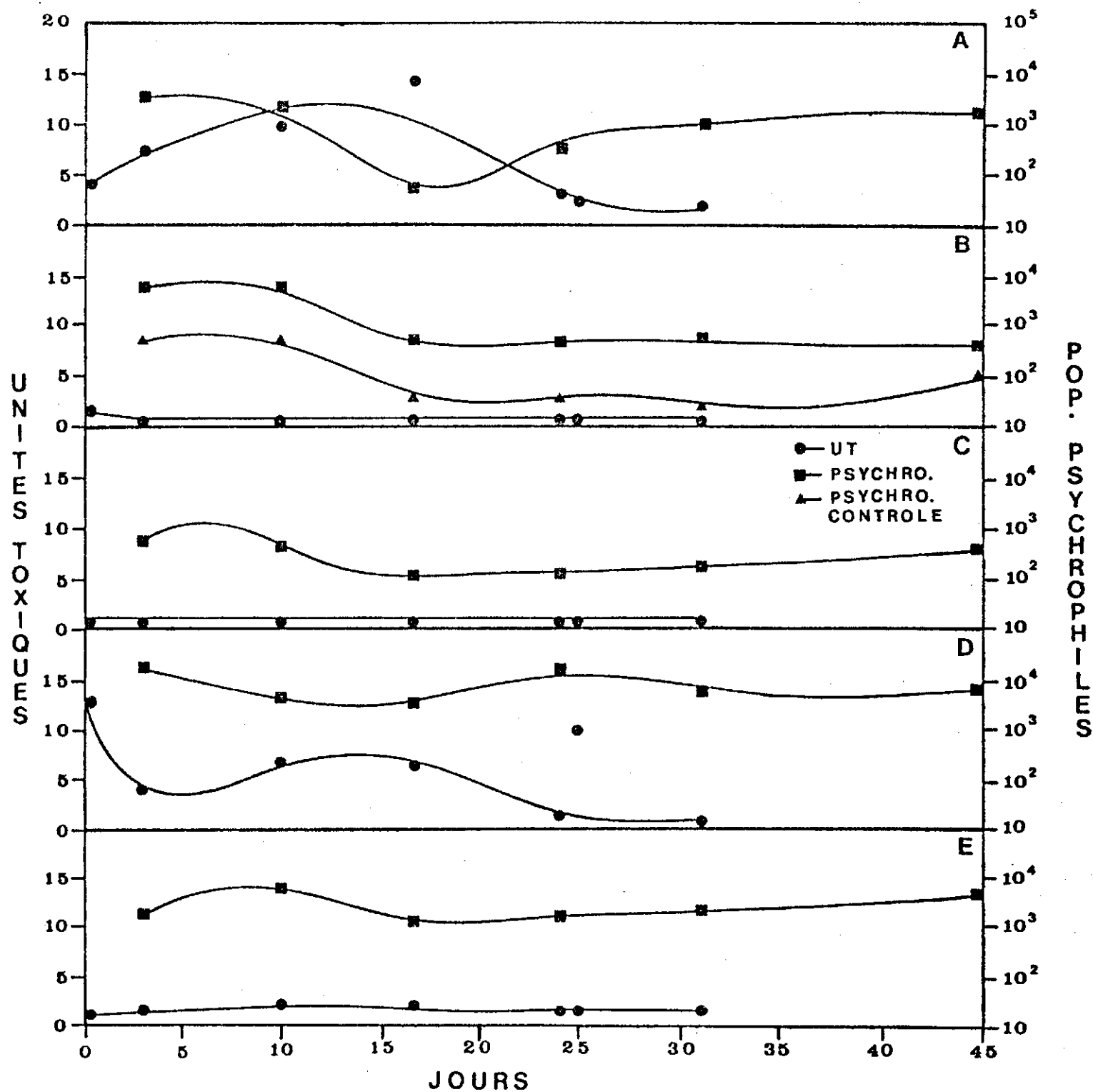


TABLEAU 1

Bio-analyses Microtox des eaux de lixiviation des
cinq sites d'enfouissement (dépotoirs)

	Résultats Microtox en Unités Toxiques (UT = 100%/CI ₅₀)					
	Echantillon Jour 0			Echantillon Jour 65		
Site	Polyéthylène	Verre	Valeur médiane	Polyéthylène	Verre	Valeur médiane
A-1	9.0	4.6	9.2	2.7	2.8	2.9
A-2	15.6	4.8		2.4	3.0	
A-3	9.3	27.8		3.9	15.6	
B-1	1.3	1.3	1.3	N.D.	N.D.	N.D.
B-2	1.3	1.3		N.D.	N.D.	
B-3	1.3	1.3		N.D.	N.D.	
C-1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C-2	N.D.	N.D.		N.D.	N.D.	
C-3	N.D.	N.D.		N.D.	N.D.	
D-1	13.7	10.5	15.8	5.3	29.4	8.5
D-2	10.0	17.8		9.7	21.2	
D-3	27.0	27.8		7.2	2.3	
E-1	21.7	10.3	9.6	4.9	7.8	3.8
E-2	8.8	24.3		3.8	3.0	
E-3	7.3	5.6		3.8	1.2	

TABLEAU 2

Test Microtox réalisé sur un échantillon du site D en fonction de la méthode de mélange de l'échantillon.

Essai	Unité Toxiques	
	Echantillon agité manuellement *	Echantillon mélangé au broyeur**
1	25	7.7
2	10	7.1
3	6.3	7.1
<u>Ecart</u>	<u>18.7</u>	<u>0.6</u>

* Trois X10 ml sont soutirés d'une bouteille contenant un volume de l'échantillon (500 ml) pour réaliser les essais.

** Trois X10 ml sont soutirés d'un broyeur (Waring Blender) contenant un volume de l'échantillon (500 ml) pour réaliser les essais. L'homogénéisation s'effectue pendant quelques minutes à basse vitesse.

TABLEAU 3

Bio-analyse avec algues (*S. capricornutum*) des
eaux de lixiviation des cinq sites d'enfouisse-
ment (dépotoirs)

Site	Résultats en Unités toxiques (UT = 100%/CI50)	
	Echantillon Jour 0	Echantillon Jour 70
A	50	77
B	125	56
C	2.8	3.4
D	250	250
E	20	50

TABLEAU 4

Etude de dégradabilité: Tests Microtox des eaux de lixiviation des cinq sites d'enfouissement en fonction du temps de l'essai de dégradation.

Site	Résultats Microtox en Unités Toxiques (U.T. = 100%/CI ₅₀)										
	Ech. original (1)	Echantillon composé pour la dégradation									
		J-0 (2)	J-3	J-10	J-17	J-24		J-25		J-31	
						PH ₀	PH _a (3)	PH ₀	PH _a (3)	PH ₀	PH _a (3)
A	9.2	4	7.7	10	14	7.7	2.9	6.6	2.6	5.0	2.1
B	1.3	1.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-
C	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-
D	15.8	14.3	4	6.7	6.3	2.1	1.3	5.9	10	1.1	N.D.
E	9.6	1.9	1.6	2.0	2.3	2.6	1.1	2.7	1.5	2.0	1.3
Contrôle	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	-

(1) Valeurs médianes retranscrites du Tableau 1.

(2) Ajout de la semence microbienne au Jour 1.

(3) Les pH des échantillons A, D, et E exprimant une toxicité par le test Microtox furent ajustés près de la neutralité aux Jours 24, 25, et 31 afin d'évaluer l'effet du pH sur la toxicité.

TABLEAU 5

Effet de la filtration (membrane cellulosique de 0.2u)
sur des échantillons des sites A, D, E lors de l'essai
de dégradabilité au Jour 25.

Site	Unités Toxiques		pH	
	Echantillon non filtré	Echantillon filtré	non filtré	filtré
A	1.3 (2.6)**	1.3	7.1	-
D	8.3 (10) **	N.D.	7.2	-
E	1.1 (1.5)**	N.D.	7.2	-
DIV(J-65)*	> 32	1.6	7.8	8.1
D2V(J-65)*	> 32	1.2	7.8	8.0

* Expérience confirmatoire reprise sur échantillons DIV et D2V, premier et deuxième triplicata respectivement du composé "verre" réfrigéré durant 67 jours.

** Toxicité initiale de ces échantillons avant la correction apportée pour l'effet couleur.

TABLEAU 6

Etude de dégradabilité: Profil quantitatif des populations bactériennes hétérotrophes psychrophiles durant le temps de l'essai.

Site	Psychrophiles (C.F.U.*/ml)						
	Ech. orig.	Jour 3	Jour 10	Jour 17	Jour 24	Jour 31**	Jour 45
A	114	3,600	2,100	50	300	1,200	2,000
B	4	6,000	6,400	490	460	610	410
C	32	690	480	110	130	200	500
D	nd	18,000	4,700	3,700	18,000	6,300	7,400
E	43	1,600	6,600	1,300	1,800	2,500	5,500
Contrôle	-	470	480	35	190	340	350

* "colony forming unit": unité coloniale comptée sur milieu gélosé dont l'origine est attribuable à une seule cellule bactérienne.

** Fin du test de dégradabilité.

TABLEAU 7

Etude des sites d'enfouissement: potentiel de bioaccumulation
des échantillons A, B, C, D, et E.

Site	Concentration	Echantillons originaux		Echantillons après biodégradation de 31 jours.	
		F.B.1	P.B.2	F.B.1	P.B.2
A	50%	3.1	absent ou faible moyen	-	- moyen
	25%	7.4		8.7	
B	50%	7.1	moyen	-	-
	25%	12.1	fort	2.3	absent ou faible
C	50%	*	-	-	-
	25%	5.2	moyen	11.8	fort
D	50%	*	-	-	-
	25%	9.9	moyen	26.1	fort
E	50%	*	-	-	-
	25%	12.0	fort	6.0	moyen

* aucune bioaccumulation observable à ces concentrations

1. Facteur de bioaccumulation obtenu

2. Potentiel de bioaccumulation: interprétation basée sur l'évaluation antérieure de 44 échantillons d'eaux résiduaire (Blaise et collègues, 1982).

TABLEAU 8

Profil des indicateurs bactériens pour les cinq sites étudiés.

Site	Densité par 100ml			Densité par ml		Densité par 100 ml <u>Ps. aeruginosa</u>	Densité par ml <u>A. hydrophila</u>	Prés/absence de <u>Salmonella</u>
	C.T.*	C.F.*	S.F.*	BH**20°C	BH**35°C			
A-1	300	<10	160	8.4×10^4	8×10^3	>1,600	<100	non détectée
A-2	200	10	160	1.7×10^5	6×10^3	>1,600	<100	non détectée
A-3	170	<10	190	8.9×10^4	8×10^3	>1,600	<100	non détectée
B-1	10	<10	10	4×10^3	$<1 \times 10^3$	49	<100	non détectée
B-2	20	<10	20	5×10^3	$<1 \times 10^3$	39	<100	non détectée
B-3	10	<10	10	2×10^3	$<1 \times 10^3$	23	<100	non détectée
C-1	330	80	10	3×10^4	$<1 \times 10^3$	540	<100	non détectée
C-2	420	90	60	3.8×10^4	$<1 \times 10^3$	540	<100	non détectée
C-3	440	80	70	3.2×10^4	$<1 \times 10^3$	920	<100	non détectée
D-1	<10	<10	<10	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	2	<100	non détectée
D-2	<10	<10	<10	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	7	<100	non détectée
D-3	<10	<10	<10	$<1 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	5	<100	non détectée
E-1	30	<10	470	5.1×10^4	1.8×10^4	120	<100	non détectée
E-2	290	<10	230	4.9×10^4	1.5×10^4	540	<100	non détectée
E-3	740	<10	250	2.9×10^4	4×10^3	540	<100	non détectée

* Coliformes totaux, fécaux, et streptocoques fécaux, respectivement.

** Bactéries hétérotrophes.

TABLEAU 9

Multirésistance de souches Proteus/Providencia isolées lors de la systématique appliquée à la mise en évidence du groupe Salmonella dans trois des cinq sites étudiés.

Site	Résistance à un nombre donné d'antibiotiques* (et % de la totalité)						Total des souches isolées
	R-0	R-1	R-2	R-3	R-4	R-5	
A	-	-	-	19(59.4)	9(28.1)	4(12.5)	32
C	1(5.6)	1(5.6)	11(61.1)	4(22.1)	-	1(5.6)	18
E	-	1(25)	3(75)	1(25)	-	-	4

* Huit antibiotiques ont été testés (Oxoid Multo-disks 6566E: tetracycline, ampicilline, cephalothine, kanamycine, streptomycine, nitrofurantoïne, carbenicilline, et sulphafurazole).

TABLEAU 10(a)

Test de mutagénicité (AMES) sur l'échantillon
du dépotoir B.

Souche mutante testée	Nombre de:		Fiabilité du test: valide(V) non-valide (NV)	Réversion obtenue pour chaque concentration testée de l'échantillon ³				Remarques
	Réversion spontanée théorique du contrôle ²	Réversion spontanée obtenue du contrôle		20ul	50ul	100ul	200 ul	
<u>Echantillon B-1</u>								<u>Echantillon très mutagénique⁴</u> tel qu'indiqué par les réversion soulignées pour les différentes concentrations testées.
TA 1535	26-34	5-50	V	83, -	139, -	128, -	<u>240, -</u>	
TA 1535(S9) ¹	5-10	5-50	V	20, 55	37, 60	44, 45	67, 51	
TA 1537	1-4	3-25	V	<u>572, -</u>	<u>780, -</u>	<u>3,250,3,185</u>	<u>>10⁴, >10⁴</u>	
TA 1537(S9)	3-5	3-25	V	<u>567, -</u>	<u>1,050, -</u>	<u>1,900,2,000</u>	<u>2,600,2,500</u>	
TA 1538	1-3	5-40	V	49, 72	<u>1,233, -</u>	<u>3,600, -</u>	<u>>10⁴, >10⁴</u>	
TA 1538(S9)	2-4	5-40	V	<u>983, -</u>	<u>1,600, -</u>	<u>>10⁴, -</u>	<u>>10⁴, -</u>	
TA 97	61-84	98	V	<u>783, 900</u>	<u>1,700, 1,600</u>	<u>>10⁴, >10⁴</u>	<u>>10⁴, >10⁴</u>	
TA 97(S9)	63-90	98	V	75, 120	<u>318, 113</u>	<u>2,300, 2,500</u>	<u>>10⁴, >10⁴</u>	
TA 98	12-21	15-75	V	30, 33	26, 28	24, 22	<u>48, 1,166</u>	
TA 98(S9)	20-29	15-75	V	70, 146	116, 110	<u>232, 200</u>	<u>733, 800</u>	
TA 100	56-84	60-220	V	340, 225	550, 261	149, 372	<u>840, 800</u>	
TA 100(S9)	56-101	60-220	V	206, 176	131, 184	216, 128	<u>724, 380</u>	

1. S9: extrait de foie de rat utile pour la conversion métabolique de carcinogènes en leur forme mutagénique active; l'induction de la fraction S-9 fut réalisée avec de l'aroclor 1254.
2. L'écart rapporté en est un provenant d'un comptage de 4 boîtes Pétri différentes.
3. Les essais pour chaque concentration ont été réalisés en duplicata.
4. On considère l'échantillon mutagénique envers une souche mutante lorsque la réversion-test est 3 fois plus élevée que la réversion obtenue du contrôle.

TABLEAU 10(b)

Test de mutagénicité (AMES) sur l'échantillon
du dépotoir B.

Souche mutante testée	Nombre de:		Fiabilité du test: Valide (V) non-valide (NV)	Réversion obtenue pour chaque concentration testée de l'échantillon ³				Remarques
	Réversion spontanée théorique du contrôle ²	Réversion spontanée obtenue du contrôle		20u1	50u1	100u1	200u1	
<u>Echantillon B-2</u>								Echantillon ⁴ mutagénique, tel qu'indiqué par les réversions soulignées pour les différentes concentrations testées.
TA 1535	26-34	27-48	V	43, 17	41, 21	71, 23	110, 89	
TA 1535(S9) ¹	5-10	7-10	V	27, 20	21, 11	13, 13	22, 6	
TA 1537	1-4	1-4	V	4, 5	11, 6	<u>18</u> , 3	29, 22	
TA 1537(S9)	3-5	1-5	V	<u>23</u> , <u>22</u>	<u>64</u> , <u>66</u>	<u>91</u> , <u>104</u>	<u>151</u> , <u>185</u>	
TA 1538	1-3	2-5	V	1, 4	3, 4	4, 6	<u>33</u> , <u>23</u>	
TA 1538(S9)	2-4	1-4	V	<u>19</u> , 9	<u>36</u> , <u>21</u>	<u>34</u> , <u>27</u>	<u>73</u> , <u>59</u>	
TA 97	61-84	6-9	NV	29, 87	32, 72	103, 87	176, 169	
TA 97(S9)	63-90	9-23	NV	173, 102	199, 196	152, 104	146, 97	
TA 98	12-21	16-22	V	17, 16	19, 17	22, 14	19, 23	
TA 98(S9)	20-29	17-22	V	20, 25	20, 21	18, 29	22, 37	
TA 100	56-84	230-249	V	135, 111	103, 114	119, 113	119, -	
TA 100(S9)	56-101	178-257	V	129, 122	105, 132	124, 117	136, -	

1. S9: extrait de foie de rat utile pour la conversion métabolique de carcinogènes en leur forme mutagénique active; l'induction de la fraction S-9 fut réalisée avec de l'aroclor 1254.

2. L'écart rapporté en est un provenant d'un comptage de 4 boîtes Pétri différentes.

3. Les essais pour chaque concentration ont été réalisés en duplicata.

4. On considère l'échantillon mutagénique envers une souche mutante lorsque la réversion-test est 3 fois plus élevée que la réversion obtenue du contrôle.

TABLEAU 10(c)

Test de mutagénicité (AMES) sur l'échantillon
du dépotoir B.

Souche mutante testée	Nombre de:		Fiabilité du test valide (V) non-valide (NV)	Réversion obtenue pour chaque concentration testée de l'échantillon ³				Remarques
	Réversion spontanée théorique du contrôle ²	Réversion spontanée obtenue du contrôle		20ul	50ul	100ul	200ul	
<u>Echantillon B-3</u>								
TA 1535	26-34	*Problème de contamination expérimentale						<u>Echantillon très faiblement mutagénique⁴, tel qu'indiqué par la réversion soulignée à la concentration de 50ul testée avec la souche TA 1537</u>
TA 1535(S9) ¹	5-10	*Problème de contamination expérimentale						
TA 1537	1-4	1-5	V	10, 11	15, 12	11, 10	13, 13	
TA 1537(S9)	3-5	1-7	V	7, 6	7, 3	4, 3	5, 17	
TA 1538	1-3	2-9	V	10, 4	7, 12	9, 6	4, 3	
TA 1538(S9)	2-4	4-7	V	8, 9	8, 12	10, 5	13, 8	
TA 97	61-84	45-48	V	37, 30	81, 22	31, 38	33, 66	
TA 97(S9)	63-90	50-63	V	91, 106	89, 63	110, 68	126, 102	
TA 98	12-21	11-15	V	14, 9	13, 7	6, 14	13, 7	
TA 98(S9)	20-29	6-13	V	14, 17	15, 21	17, 16	8, 13	
TA 100	56-84	98-150	V	132, 140	145, 116	156, 168	142, 100	
TA 100(S9)	56-101	84-150	V	128, 144	128, 108	96, 147	131, 112	

1. S9: extrait de foie de rat utile pour la conversion métabolique de carcinogènes en leur forme mutagénique active; l'induction de la fraction S-9 fut réalisée avec de l'aroclor 1254.
2. L'écart rapporté en est un provenant d'un comptage de 4 boîtes Pétri différentes.
3. Les essais pour chaque concentration ont été réalisés en duplicata.
4. On considère l'échantillon mutagénique envers une souche mutante lorsque la réversion-test est 3 fois plus élevée que la réversion obtenue du contrôle.

TABLEAU 11

Tests de toxicité avec Daphnia pulex:
évaluation originale des échantillons
prélevés en triplicata des cinq sites
d'enfouissement (analyses réalisées le
15/4/82).

Site	CI ₅₀ -test d'immobilité statique de 96 heures	
	Ecart observé ¹	valeur calculée ²
A-1	3.2 - 5.6%	4.48%
A-2	3.2 - 5.6%	3.89%
A-3	3.2 - 5.6%	3.89%
B-1	56 - 100%	-
B-2	ALA ³	-
B-3	56 - 100%	80%
C-1	ALA ³	-
C-2	ALA ³	-
C-3	ALA ³	-
D-1	1.0 - 1.8%	-
D-2	5.6 - 10%	8.2%
D-3	10%	-
E-1	5.6 - 10%	7.6%
E-2	5.6 - 10%	6.3%
E-3	3.2 - 5.6%	3.1%

1. Selon les observations d'immobilité recueillies tout au long de la bio-analyse.
2. Lorsque possible, une valeur déterminée de la CI₅₀ a été calculée selon la méthode statistique Spearman-Kärber.
3. ALA: Aucune létalité aiguë

TABLEAU 12

Tests de toxicité avec Daphnia pulex: évaluation des échantillons composés des cinq sites d'enfouissement en fonction de trois paramètres d'inhibition (période d'analyse: du 26/5/82 au 9/6/82).

Site	Genre de CI ₅₀		
	Test d'immobilité 4 jours	test d'immobilité 14 jours	Test d'inhibition de la reproduction 14 jours
A	3.2 - 5.6%	3.2 - 5.6%	3.2 - 5.6%
B	18 - 32%	< 10%	< 10%
C	ALA ¹	56 - 100%	56 - 100%
D	ALA ¹	ALA ¹	3.2 - 5.6%
E	5.6 - 10%	5.6 - 10%	5.6 - 10%

¹ ALA: Aucune létalité aiguë.

TABLEAU 13

Tests de toxicité avec *Daphnia pulex*: toxicités relatives, en ordre décroissant, obtenues selon la période et le type d'analyse.

<u>Période d'échantillonnage</u>	<u>Genre de test réalisé</u>
<u>15/4/82</u>	<u>Immobilité - 4 jours</u> $A > D, E > B > C$
<u>26/5/82 - 9/6/82</u>	<u>Immobilité - 4 jours</u> $A > E > B > C, D$
	<u>Immobilité - 14 jours</u> $A > B, E > C > D$
	<u>Inhibition reproductive</u> $A, D > B, E > C$

TABLEAU 14

Test de toxicité sur protozoaires: détermination de la dose minimale active (DMA) et de la CI₅₀ en fonction de l'inhibition de croissance.

Site	Inhibition de croissance en % V/V d'échantillon	
	DMA	CI ₅₀
A	0.001-0.01	0.1 - 1.0
B	non testé	non testé
C	non testé	non testé
D	0.1 - 1.0	> 1 %
E	0.1 - 1.0	0.1 - 1.0

TABLEAU 15

Toxicités relatives des différents indicateurs biologiques
envers les cinq sites d'enfouissement.

Indicateur	Toxicité relative en ordre décroissant
1. <u>Bactéries</u> <u>Microtox</u> (bactérie luminescente)	$D > E > A > B > C$
2. <u>Algues</u> <u>(S. capricornutum)</u>	$D > B > A > E > C$
3. <u>Crustacés</u> <u>(D. pulex)</u>	$A > D, E > B > C$
4. <u>Protozoaires*</u> <u>(C. campylum)</u>	$A > D, E \dots (B, C ?)**$

* toxicité relative selon DMA (voir Tableau 14)

** B, C: non testés par le test sur protozoaires.

TABLEAU 16

Sensibilité relative des différents indicateurs biologiques à l'égard
du paramètre toxicité envers les cinq sites étudiés.

Indicateur	Unités toxiques* obtenues en fonction de chaque site et de chaque indicateur					Total des unités toxiques pour chaque indicateur
	A	B	C	D	E	
Microtox (selon Tableau 1)	9.2	1.3	<1**(N.D.)	15.8	9.6	36.9
Algues (selon Tableau 3)	50	125	2.8	250	20	447.8
Crustacés (selon Tableau 11)	25.7	1.3	<1**	12.2	15.9	56.1
Protozoaires***(selon Tableau 14)	100-1,000	non- testé	non- testé	100	100-1,000	200 < 300 -> 2,000

*Unités toxiques provenant de valeurs uniques ou médianes, selon le cas.

**" <1" a été rapporté comme "1" pour les besoins de ce calcul.

***Unités toxiques traduites des valeurs CI₅₀ du Tableau 14.

TABLEAU 17

Estimation du site le plus toxique en considération des indicateurs biologiques retenus selon un système de rang.

Indicateur	Unités de rang (0 - 1 - 2 - 4 - 8) assignées selon l'ordre croissant de toxicité du Tableau 16				
	A	B	C	D	E
Microtox	2	1	0	8	4
Algues	2	4	0	8	1
Crustacés	8	1	0	4	4
Protozoaires	8	1*	1*	4	4
Total	<u>20</u>	7	1	<u>24</u>	<u>17</u>

Ordre décroissant de toxicité générale
selon le site

$D > A > E > B > C$

* Valeur arbitrairement assignée.

TABEAU 18

Problèmes environnementaux relevés aux cinq sites
d'enfouissement étudiés.

Site	Toxicité	Problèmes environnementaux détectés*				
		persistance de substances toxiques	potentiel de bioaccumulation par phytoplancton	contamination Fécale	résistance plasmidique	mutagénicité
A	+++	+	moyen	++	+++	-
B	++	-	fort	+	-	+++
C	+	-	moyen	++	++	-
D	+++	-	moyen	-	-	-
E	+++	-	fort	++	+	-

* Légende: +++ très évidente
 ++ évidente
 + faible probabilité
 - pas de mise en évidence réelle.

ANNEXE 7

TESTS REALISES AVEC DES ALGUES EN VUE DE LA
CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE DES EAUX DES CINQ SITES

par
P. Couture
Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau)
Complexe Scientifique du Québec
2700 rue Einstein
Sainte-Foy, Québec.
G1V 4C7

1. ANALYSE DU SECOND NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE

1.a Toxicité sous-létale à court terme pour le phytoplancton

Les études de toxicité sous-létale à court terme avec algues furent réalisées sur les espèces Chlamydomonas variabilis et Selenastrum capricornutum. Les méthodes utilisées étant sensiblement les mêmes que celles décrites dans un ouvrage antérieur préparé pour Environnement Canada (Van Coillie et al., 1982), nous nous limiterons ici qu'à en rappeler les principales étapes tout en précisant les modifications apportées.

Enrichissement des échantillons

- - - - -

Après avoir ajusté le pH à 7.5, les échantillons sont enrichis selon une méthode semblable à celle pratiquée par Joubert (1980): elle permet d'assurer la présence des macronutrients et des micronutrients à des concentrations suffisantes pour permettre la croissance des organismes.

Ainsi, dès leur arrivée au laboratoire, les échantillons destinés aux bio-analyses sur C. variabilis étaient enrichis avec le milieu 0.12 AAP sans EDTA tel, que modifié par Chiaudani et Vighi (1978) pour les teneurs en Zn, Co et Fe¹.

Pour les bio-essais réalisés sur S. capricornutum, étant donné que certaines mesures nécessitaient un temps d'incubation plus long que 24 heures (voir section 4.e), les échantillons furent, avant enrichissement, filtrés sur une membrane Millipore (HAWP; 0.45 µm), pré-rincée avec 500 mL d'eau ultra-pure (procédé Millipore: Milli Q3RO/Milli-Q₂). Cette étape permet d'enlever les particules en suspension ainsi que les algues indigènes

¹ On trouvera, dans notre rapport antérieur (Van Coillie et al., 1982), les teneurs des différents éléments pour le milieu 1.0 AAP.

pouvant interférer sur les mesures au 8ième jour d'incubation. Cette pratique est mieux adaptée que celle consistant à autoclaver et filtrer (EPA, 1978); en effet, ces deux traitements combinés ont pour conséquence de modifier la toxicité des échantillons (Couture et al., 1982; Joubert, 1981) alors que la filtration seule ne semble pas la modifier (Couture et al., 1982).

Dilution des échantillons

Les bio-essais requièrent différentes dilutions de l'échantillon enrichi. Elles furent effectuées de façon à assurer dans chacune des dilutions une concentration en macronutriments et en micronutriments au moins égale à celle présente dans le milieu 0.12 AAP. Des exemples du mode de dilution apparaissent au tableau 1.

Bio-analyses sur C. variabilis

Cette algue est une chlorophycée unicellulaire mobile répandue en eau douce. Le milieu AAP sert de substrat pour cultiver les souches incubées dans les conditions suivantes:

- pH du milieu de culture ajusté à 7.5 en début de culture;
- 12 heures de photopériode;
- 5400 lux;
- 24 °C;
- agitation constante de 110 oscillations/minute.

Seules les cultures en phase exponentielle de croissance servaient d'inoculum lors des tests.

Tableau 1: Mode de dilution des échantillons

A) Pour les tests avec *Chlamydomonas variabilis*

Concentration de l'effluent (% v/v)	Volume de l'échantillon ¹ (mL)	Volume de l'eau de dilution ² (mL)	Volume de l'inoculum ³ (mL)
90	9.0	0	1
50	5.0	4.0	1
10	1.0	8.0	1
5	0.5	8.5	1
0.5	0.05	8.95	1
témoin	0	9.0	1

B) Pour les tests avec *Selenastrum capricornutum*

Concentration de l'effluent (% v/v)	Volume de l'échantillon ¹ (mL)	Volume de l'eau de dilution ² (mL)	Volume de l'inoculum ³ (mL)
36	36	63.0	1
12	12	87.0	1
4	4	95.0	1
1.3	1.3	97.7	1
0.5	0.5	98.5	1
témoin	0	99.0	1

¹ Effluent préalablement enrichi à 0.12 AAP² Milieu de culture 0.12 AAP³ Pour *Chlamydomonas variabilis*, la concentration dans le tube à essais est de 500,000 algues/mLPour *Selenastrum capricornutum*, la concentration dans la fiole conique est de 10,000 algues/mL

La méthode comprend d'abord un essai préliminaire dans le but de situer la zone utile de concentration et un essai définitif fait à partir de trois replicas par concentration d'effluents. Ces essais sont réalisés en éprouvettes avec des inoculum de 5×10^6 algues/mL; ils requièrent une incubation de 24 heures sous les mêmes conditions que celles décrites précédemment.

La toxicité du produit se détermine à partir du degré d'immobilisation de l'algue ou encore en déterminant le Δ -Fluorescence.

L'immobilisation de l'algue est déterminée au microscope et caractérisée à l'aide d'une cote variant de 0 à 3 (Van Coillie et al., 1982; Lundahl, 1974):

- cote 0: immobilité;
- cote 1: faible mobilité;
- cote 2: mobilité quelque peu amoindrie;
- cote 3: mobilité normale semblable à celle des témoins.

Les cotes obtenues pour les trois replicas d'une concentration donnée sont additionnées et seront utilisées pour le calcul des I_M (voir section: résultats et discussion).

Le Δ -Fluorescence détermine l'augmentation de fluorescence "in vivo" induite par un ajout de 100 μ l d'un herbicide, le DCMU (3-(3,4-dechlorophényle)-1,1-diméthyle-urée; 5.8 mg/100 mL éthanol). L'équation suivante s'applique pour calculer l'augmentation:

$$\Delta\text{-Fluorescence} = F_{\text{DCMU}} - F$$

où F_{DCMU} = la fluorescence mesurée (Fluorimètre Turner) après un ajout de DCMU;

F = la fluorescence mesurée sans ajout de DCMU.

Les valeurs de Δ -Fluorescence servent par la suite à déterminer les $I_{\Delta F}$ (voir section: résultats et discussion).

Bio-analyses sur S. capricornutum

Cette algue est aussi une chlorophycée unicellulaire; toutefois, les cellules sont non-mobiles et se retrouvent aussi bien en milieu oligotrophe qu'en milieu eutrophe. Cette espèce s'est déjà avérée un indicateur très sensible pour mettre en évidence l'effet de produits toxiques tant inorganiques qu'organiques (Van Coillie et al., 1982; Couture et al., 1982; Chiaudani et Vighi, 1978).

Le même milieu de culture ainsi que les mêmes conditions expérimentales décrits pour C. variabilis ont été employés pour cultiver la souche. Les bio-analyses comprenaient aussi un essai préliminaire et un essai définitif: les expériences étaient réalisées en triplicata dans des fioles coniques de 500 mL avec un volume de 100 mL de solution sous les mêmes conditions d'incubation que celles décrites précédemment. Le Δ -Fluorescence déterminé après 24 heures permettait d'identifier les concentrations d'effluents ayant des répercussions négatives sur l'état physiologique de l'algue.

Résultats et discussion

La précision des cotes de mobilité n'a pu être déterminée compte tenu de la technique utilisée. Par contre, les Δ -Fluorescence furent mesurés sur chacun des trois replicas d'une concentration d'effluents; les moyennes arithmétiques avaient des coefficients de variation < 15%. Cette valeur peut être considérée comme acceptable puisqu'il existe une variabilité variant de 10 à 30% pour des mesures intra ou inter-laboratoire relatives à la détermination de biomasse de S. capricornutum en conditions normales (EPA, 1971).

La toxicité des différentes concentrations d'effluents (tableaux 2 et 3) a été calculée à partir des % d'inhibition (I). Que ce soit à l'aide des cotes de mobilité (I_M) ou des valeurs de Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$), l'inhibition était ainsi déterminée:

$$I = \frac{T - X}{T} \cdot 100$$

où: T = valeur de la mesure (cote de mobilité ou Δ -Fluorescence) dans le milieu de culture témoin;

X = valeur de la mesure (cote de mobilité ou Δ -Fluorescence) pour différentes concentrations d'effluents.

Afin de comparer la toxicité des effluents, on a identifié, pour chaque échantillon, la gamme de concentrations où une inhibition de 50% aurait pu être détectée advenant le choix d'une dilution adéquate de l'effluent. Ainsi, en analysant les données présentées au tableau 2 en fonction des paramètres choisis (I_M ou $I_{\Delta F}$) et mesurés lors des bio-essais avec C. variabilis, on précise pour chaque effluent les gammes de concentrations suivantes:

Sites	Gammes de concentrations (%)	
	$I_M = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	5.6 - 10	10 - 18
B	> 90	> 90
C	> 90	> 90
D	10 - 18	10 - 18
E	18 - 32	18 - 32

Tableau 2: Pourcentage d'inhibition de la mobilité (I_M) ou du Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$) chez Chlamydomonas variabilis

Sites	Concentrations*	I_M	$I_{\Delta F}$	Sites	Concentrations	I_M	$I_{\Delta F}$
A	3.2	0	0	D	5.6	0	0
	5.6	28	12		10.0	33	30
	10.0	61	28		18.0	93	98
	18.0	94	64		32.0	100	100
	32.0	100	100		56.0	100	100
B	0.5	0	0	E	5.6	0	0
	5.0	0	0		10.0	0	24
	10.0	0	0		18.0	44	48
	50.0	33	31		32.0	78	74
	90.0	33	48		56.0	100	98
C	0.5	0	0				
	5.0	0	0				
	10.0	0	8				
	50.0	33	8				
	90.0	33	18				

* Les concentrations sont exprimées en % (v/v).

Ces résultats montrent qu'il existe une bonne correspondance entre les valeurs obtenues à partir des observations microscopiques et celles mesurées en fluorescence. En effet, seul l'effluent A présente une gamme pour $I_M = 50\%$ différente de celle évaluée en considérant les $I_{\Delta F}$. Cependant, compte tenu que les cotes de mobilité restent subjectives puisqu'elles sont déterminées selon l'appréciation d'une observation, et que les valeurs appartiennent à des gammes voisines, il reste difficile d'affirmer que la différence soit significative. Dès lors, en se basant sur les gammes $I_{\Delta F}$, la toxicité des effluents peut être caractérisée selon l'ordre suivant:

$$A \approx D > E > B \approx C$$

La même approche peut être effectuée avec les résultats obtenus à partir des bio-essais avec S. capricornutum où seules des valeurs de $I_{\Delta F}$ furent calculées, cette algue étant non mobile. En considérant les données présentées au tableau 3, les gammes de concentration suivantes sont obtenues pour $I = 50\%$.

Sites	Gammes de concentrations (%)
	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	36 - 99
B	51 - 63
C	69
D	12 - 36
E	12 - 36

La toxicité des échantillons apparaît donc selon l'ordre suivant:

$$D \approx E > B > C$$

Tableau 3: Pourcentage d'inhibition du Δ -Fluorescence ($I_{\Delta F}$) chez Selenastrum capricornutum

Sites	Concentrations*	$I_{\Delta F}$	Sites	Concentrations	$I_{\Delta F}$
A	1.3	0	D	0.1	0
	4.0	0		1.3	0
	12.0	11		4.0	0
	36.0	39		12.0	0
	99.0	60		36.0	55
B	40.0	0	E	1.3	0
	51.0	33		4.0	0
	63.0	58		12.0	21
	79.0	60		36.0	93
	99.0	65		99.0	100
C	48.0	28			
	57.0	46			
	69.0	50			
	83.0	51			
	90.0	-			

* Les concentrations sont exprimées en % (v/v).

- La valeur est rejetée: le coefficient de variation était > 15%.

Quant à A, il demeure moins toxique que D et E mais les valeurs obtenues (36 - 99) ne permettent pas de le discriminer par rapport à B et C. En regroupant au tableau ci-dessous les gammes de concentrations présentées précédemment,

Sites	<u>C. variabilis</u> (%)	<u>S. capricornutum</u> (%)
A	10 - 18	36 - 99
B	> 90	51 - 63
C	> 90	69
D	10 - 18	12 - 36
E	18 - 32	12 - 36

il apparaît que la sensibilité d'une espèce par rapport à l'autre varie en fonction de l'effluent considéré selon l'ordre suivant:

Sites	Sensibilité		
A	<u>C. variabilis</u>	>	<u>S. capricornutum</u>
B	"	<	"
C	"	<	"
D	"	≈	"
E	"	≈	"

Signalons qu'une différence marquée de sensibilité entre ces deux espèces a aussi été mise en évidence pour des effluents industriels (Van Coillie

et al., 1982). Par ailleurs, S. capricornutum demeure plus sensible que C. variabilis pour des effluents peu toxiques (B et C) lesquels s'avèrent vis-à-vis les deux espèces des effluents moins toxiques que D et E.

Il semble donc que la méthode employée ici s'avère adéquate pour comparer la toxicité des effluents entre eux. Toutefois, elle n'est pas assez précise pour déterminer leur CI50. À cette fin, une méthodologie mathématique plus appropriée que celle du programme "Probit" utilisé pour les bio-essais avec poissons mériterait d'être développée; nous avons déjà formulé une telle recommandation (Van Coillie et al., 1982) pour l'utilisation des bio-essais avec algues en écotoxicologie aquatique sous-létale.

Conclusion

- - - - -

Les mesures de toxicité à court terme avec algues ont mis en évidence les aspects suivants:

- 1- la sensibilité du Δ -Fluorescence pour détecter la toxicité des eaux des cinq sites d'enfouissement vis-à-vis S. capricornutum; seuls les échantillons en provenance de trois sites étaient toxiques pour C. variabilis et ceci en considérant aussi bien les mesures de mobilité que celles du Δ -Fluorescence;
- 2- vis-à-vis S. capricornutum et C. variabilis, les échantillons A, D et E avaient une toxicité plus grande que ceux des sites B et C;
- 3- pour l'ensemble des effluents, on ne peut signaler de constance au niveau de la sensibilité d'une espèce par rapport à l'autre. Toutefois, avec les effluents peu toxiques (B et C), S. capricornutum s'avère plus sensible que C. variabilis; avec les effluents plus toxiques (A, D et E), la sensibilité des deux espèces est semblable;
- 4- la méthodologie employée s'avère adéquate pour comparer la toxicité des effluents entre eux; elle n'est pas assez précise pour déterminer les CI50.

En conséquence, nous recommandons:

- 1- l'abandon des déterminations de mobilité au profit de celles du Δ -Fluorescence: la mobilité se révèle un paramètre subjectif. En effet, les cotes de mobilité sont déterminées selon l'appréciation d'une observation. Par contre, le Δ -Fluorescence est calculé à partir des mesures de F et F_{DCMU}. Le Δ -Fluorescence nous semble un paramètre d'un intérêt particulier pour détecter la présence de toxicité puisqu'il est associé à l'état physiologique des cellules (Roy et Legendre, 1979);

- 2- la réalisation de bio-analyses uniquement avec S. capricornutum, une espèce beaucoup plus utilisée à l'échelle internationale (EPA, 1979). D'ailleurs cette algue s'est montrée, pour 4 échantillons sur 5, soit plus sensible que C. variabilis, soit également sensible par rapport à cette dernière;
- 3- le développement d'une méthodologie mathématique appropriée aux bio-essais avec algues pour déterminer les CI50 ainsi que nous l'avons déjà suggéré antérieurement (Van Coillie et al., 1982).

1.b Toxicité sous-létale à moyen terme pour le phytoplancton

Cette section de l'étude fut réalisée à partir de bio-essais avec l'algue S. capricornutum. Les méthodes utilisées ont été détaillées précédemment pour la filtration, l'enrichissement et le mode de dilution des effluents (section 1.a); la concentration de l'inoculum était la même (1×10^4 cellules/mL) et le temps d'incubation fut porté à 8 jours pour satisfaire les exigences requises afin d'obtenir une mesure de toxicité sous-létale à moyen terme. On n'apporta aucune autre modification aux conditions d'incubation décrites antérieurement. Mentionnons, enfin, que chacune des concentrations d'effluents fut testée en triplicata.

La toxicité des échantillons fut déterminée à partir des mesures de dénombrement et des déterminations des Δ -Fluorescence au 8ième jour d'incubation.

Dénombrement

- - - - -

La méthodologie appliquée découle de celle utilisée par Joubert (1980) et Couture et al. (1981) pour des effluents. Le niveau de toxicité des échantillons se détermine selon deux approches.

La première consiste à comparer, par rapport au témoin, les teneurs en cellules obtenues aux diverses concentrations d'effluents: le dénombrement s'effectue à l'aide d'un compteur électronique de particule (Coulter Counter, Modèle TA, cellule de 70 μ m). La toxicité des échantillons est calculée à partir des % d'inhibition (I_0) par rapport à l'échantillon témoin (voir calcul de I, section 1.a: résultats et discussion).

La seconde permet de tenir compte de la teneur initiale (avant l'enrichissement) en substances nutritives de l'effluent. Ainsi, par exemple, au cours de bio-essais sur des effluents peu toxiques, il peut s'avérer que les échantillons riches en azote et en phosphore présentent, pour des dilutions plus fortes, une diminution du nombre de cellules par rapport au témoin; cette baisse pourrait être attribuable à une diminution des teneurs en nutriments dans l'échantillon d'eau.

Pour tenir compte de cette éventualité, la toxicité de l'échantillon est déterminée (1) en calculant la biomasse d'algues pouvant théoriquement se développer en fonction des teneurs en azote ou en phosphore et (2) en comparant cette dernière valeur avec la valeur déterminée à partir du dénombrement. Dans le présent cas, l'inhibition (I_B) sera ainsi calculée:

$$I_B = \frac{B_c - B}{B}$$

où: B_c = biomasse d'algues calculée (mg/L) à partir des teneurs en azote inorganique ou en phosphore inorganique¹ selon que l'un ou l'autre soit l'élément contrôlant la croissance (EPA, 1978);

B = biomasse mesurée (mg/L) au 8ième jour d'incubation².

¹ Les teneurs en azote inorganique ($\text{NH}_3 + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) et en phosphore total inorganique (ortho - P + poly - P) furent déterminées selon le procédé Technicon sur les échantillons enrichis.

² La biomasse mesurée (B) s'obtient en utilisant l'expression suivante:
 $B = \text{Dénombrement (cell/L)} \times 1.45 \times 10^{-8} \text{ (mg/cellules)}.$

Δ -Fluorescence

- - - - -

On procéda comme à la section 1.a pour déterminer l'augmentation de fluorescence induite par le DCMU. Signalons ici que cette mesure tient compte de la couleur de l'échantillon, de la concentration des cellules et de leur état physiologique.

Résultats et discussion

- - - - -

Les mesures de dénombrement et les déterminations de Δ -Fluorescence sur chaque triplicata d'une même dilution présentaient des coefficients de variation < 15% par rapport à leur moyenne. Pour limiter la présentation des données, nous nous en tiendrons qu'à présenter les valeurs des gammes de concentrations où une inhibition de 50% aurait pu être détectée advenant le choix d'une dilution adéquate de l'effluent; d'ailleurs, nous avons vérifié précédemment (section 1.a) l'aptitude de cette méthode à comparer la toxicité des échantillons entre eux. L'ensemble des valeurs peut donc être résumé de cette façon:

Sites	Gammes de concentration (%)		
	$I_D = 50\%$	$I_B = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	4 - 12	4 - 12	4 - 12
B	< 30	< 30	< 30
C	48	48	57 - 69
D	< 0.15	< 0.15	0.45 - 1.35
E	4 - 12	4 - 12	4 - 12

Que l'on considère n'importe lequel des paramètres ($I_D = 50\%$; $I_B = 50\%$; $I_{\Delta F} = 50\%$), la toxicité des échantillons apparaît selon l'ordre suivant:

$$D > E \approx A > C$$

Quant à B, sa toxicité est plus faible que C mais on ne peut le discriminer par rapport à A, D et E. Il nous fut impossible de reprendre les bio-analyses sur B à cause d'un manque d'échantillon. Par ailleurs, les gammes de concentrations pour A, B et E sont les mêmes, quel que soit le paramètre considéré (I_D , I_B ou $I_{\Delta F}$); toutefois, elles varient chez les effluents C et D, où elles sont plus élevées pour $I_{\Delta F}$ que pour I_D et I_B . Dans ce dernier cas, les différences pourraient être liées au manque de justesse des mesures effectuées au compteur électronique; à cet effet, une étude de Rehnberg et al. (1982) effectuée à l'aide de bio-essais (*S. capricornutum*) sur un herbicide a clairement montré les limitations de cette technique par rapport à des déterminations de chlorophylle-a active ou de fluorescence.

Si on compare nos résultats avec ceux discutés précédemment (section 1.a) et déterminés à partir des Δ -Fluorescence sur *S. capricornutum* après 24 h (voir tableau ci-dessous):

Sites	Gamme de concentrations (%) pour $I_{\Delta F} = 50\%$	
	24 heures	8 jours
A	36 - 99	4 - 12
B	51 - 63	< 30
C	69	57 - 69
D	12 - 36	0.45 - 1.35
E	12 - 36	4 - 12

On constate que le temps d'incubation a peu d'effet au niveau de la pondération des effluents selon l'importance de leur toxicité, la plus forte étant D alors que la plus faible reste C. De plus, E demeure plus toxique que les échantillons A, B et C. Quant à ces trois derniers, bien qu'on ne puisse affirmer (à cause du manque de précision en A: 36-99 et B: < 30) que leur ordre reste le même après 24 heures et après 8 jours, les valeurs obtenues suggèrent la séquence suivante: $A > B > C$.

De plus, en comparant les deux séries de valeurs, on observe que la sensibilité de l'algue augmente avec son temps de contact vis-à-vis l'effluent: les gammes de concentrations pour $I = 50\%$ ont significativement diminuées au 8ième jour pour 4 effluents sur 5¹. D'autres auteurs ont déjà observés des changements (diminution ou augmentation) de la toxicité en fonction de la durée de l'incubation (Van Coillie et al., 1982; Joubert, 1981; Chiaudani et Vighi, 1978). Il semblerait, par exemple, que les algues, au cours de leur développement, peuvent modifier la spéciation des métaux en excréant des métabolites qui, en complexant ces métaux, viendraient diminuer leur toxicité (Rai et al., 1981); d'autre part, la biodégradation ainsi que la dégradation photochimique et le temps de pénétration du toxique à travers la membrane sont d'autres facteurs capables d'influencer la mesure de toxicité d'un échantillon vis-à-vis les algues. Rai et al. (1981) ont d'ailleurs présenté une excellente revue de plusieurs facteurs environnementaux pouvant affecter la toxicité des métaux.

Les modifications de sensibilité en cours de croissance étant liées à différents facteurs extrinsèques et intrinsèques au métabolisme des algues, il nous apparaît essentiel de bien différencier, lors d'études écotoxicologiques avec algues, entre la toxicité sous-létale à court terme et celle à moyen terme. En conséquence, la caractérisation de la toxicité d'un échantillon devrait effectivement couvrir ces deux aspects.

¹ Seul l'échantillon le moins toxique (C) ne présente pas cet effet.

Conclusion

- - - - -

Les déterminations de toxicité sous-létale à moyen terme avec algues ont montré que:

- 1- l'échantillon D présente la plus forte toxicité, quel que soit le paramètre considéré (I_D , I_B ou $I_{\Delta F}$) alors que C est le moins toxique;
- 2- les gammes de concentrations de A, B et E sont les mêmes, quelle que soit la méthode, alors qu'elles varient pour C et D: ces différences pourraient être liées au manque de justesse des déterminations au compteur électronique;
- 3- le temps d'incubation a peu d'effet sur la pondération des effluents selon l'importance de leur toxicité: par contre, il augmente la toxicité de 4 effluents (A, B, D, E).

Nous recommandons que:

- 1- les déterminations de Δ -Fluorescence soient dorénavant intégrées aux mesures de toxicité lors des bio-essais avec algues;
- 2- la caractérisation de la toxicité d'un échantillon doit nécessairement comporter des déterminations reflétant, d'une part, la toxicité sous-létale à court terme et, d'autre part, celle à moyen terme.

2. ANALYSE DE TROISIÈME NIVEAU DE PROTECTION ENVIRONNEMENTALE (mécanismes cellulaires et environnementaux) : dégradabilité et toxicité ultérieures pour le phytoplancton.

Après dégradation biologique, la toxicité des effluents pour les algues fut ré-évaluée à partir de bio-essais avec S. capricornutum, selon les mêmes conditions que celles décrites à la section 1.b. Les résultats ont été traités de la même façon que précédemment (sections 1.a et b) et les valeurs obtenues pour les gammes de concentrations sont rassemblées ci-après:

Sites	Gamme de concentration (%)		
	$I_D = 50\%$	$I_B = 50\%$	$I_{\Delta F} = 50\%$
A	7 - 15	7 - 15	7 - 15
B	> 99	40 - 80	> 99
C	> 99	20 - 40	> 99
D	30 - 60	10 - 20	30 - 60
E	10 - 20	10 - 20	10 - 20

Des différences significatives apparaissent entre les gammes de concentrations pour $I_B = 50\%$ et celles pour $I_D = 50\%$ ou $I_{\Delta F} = 50\%$. Ces variations pourraient être attribuables au manque de justesse des valeurs de phosphore total inorganique, ce qui entraînerait une surestimation de la biomasse calculée (B_C) et par le fait même une surestimation de la toxicité. D'ailleurs, les travaux de White et Payne (1980) et de White et al. (1981) montrent bien comment les déterminations de phosphore selon la technique de

"Technicon" peuvent surestimer les concentrations biodisponibles de cet élément pour les algues. À cet effet, nous avons déjà mentionné l'occurrence d'une telle situation lors d'une étude effectuée sur des eaux de surface avec S. capricornutum.

Ainsi, compte tenu du manque de justesse des valeurs B_c et des déterminations effectuées au compteur électronique (voir section 1.b), il apparaît que les gammes de concentrations obtenues à partir des valeurs de Δ -Fluorescence soient davantage représentatives de la toxicité des effluents. Ceux-ci peuvent donc être classés selon l'ordre suivant par rapport à leur toxicité:

$$A \approx E > D > B \approx C$$

Par rapport à l'ordre établi selon les tests avant la dégradation biologique (section 4.e: $D > E \approx A > C$), seul l'effluent C garde la même place par rapport aux autres en demeurant le moins toxique. Par ailleurs, suite au traitement biologique, la toxicité a diminué (B, C et D) ou est demeurée la même (A et E) comme le montrent les données suivantes:

Sites	Gammes de concentrations (%) pour $I_{\Delta F} = 50\%$	
	Avant dégradation	Après dégradation
A	4 - 12	7 - 15
B	< 30	> 99
C	57 - 69	> 99
D	0.45 - 1.35	30 - 60
E	4 - 12	10 - 20

Conclusion

- - - - -

Les bio-essais effectués pour déterminer la toxicité des effluents après bio-dégradation ont révélé que:

- 1- le traitement biologique n'avait pas d'effets significatifs au niveau des effluents A et E alors qu'il diminuait significativement la toxicité de B, C et D;
- 2- en considérant les travaux de divers auteurs, il semble que le paramètre $I_{\Delta F}$ serait plus adéquat pour déterminer la toxicité d'un échantillon: le manque de justesse des teneurs en phosphore inorganique affecte la fiabilité des valeurs I_B .

Nous recommandons que les déterminations de Δ -Fluorescence soient dorénavant intégrées aux mesures de toxicité lors des bio-essais avec algues.

RÉFÉRENCES

CHIAUDANI, G. et VIGHI, M. (1978).

The use of Selenastrum capricornutum batch cultures in toxicity studies. Mitt. Internat. Verein Limnol., 21: 316-329.

COUTURE, P., COUILLARD, D. et CROTEAU, G. (1981).

Un test biologique pour caractériser la toxicité des eaux usées. Environ. Pollut. Ser. B, 2: 217-222.

COUTURE, P., VAN COILLIE, R., CAMPBELL, P.G.C. et THELLEN, C. (1982).

Le phytoplancton, un réactif biologique sensible pour détecter rapidement la présence de toxiques. In: Leclerc, H. et Dive, D. (eds). Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique. Éditions INSERM, Paris, 1982, pp. 255-272.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1971).

Final report provisional algal assay procedures. Sanitary Engineering Research Laboratory and School of Public Health, University of California, SERL Report no. 71-6, 211 p.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1978).

The Selenastrum capricornutum Printz algal assay bottle test: experimental design application, and data interpretation protocol. U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, Report no. EPA-600/9 78-018, 125 p.

EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1979).

Bibliography of literature pertaining to the genus Selenastrum. U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, EPA-600/9-79-021, 192 p.

JOUBERT, G. (1980).

A bioassay application for quantitative toxicity measurements, using the green algae Selenastrum capricornutum. Water Res., 14: 1759-1763.

JOUBERT, G. (1981).

Étude comparative des réactions à la toxicité entre la truite (Salmo gairdneri) et quatre autres intégrateurs biologiques sur trente-six cas de bio-essais statiques. In: Bermingham, N. et al. (eds). Compte rendu des communications du septième atelier annuel sur la toxicité aquatique: 5-7 novembre 1980. Rapp. tech. can. sci. halieut. no. 990, pp. 251-264.

LUNDHAL, P. (1974).

Contribution à l'étude de la pollution des eaux par les substances toxiques; propriétés biologiques de quelques agents de surface anioniques. Thèse de docteur ingénieur, Université de Paris VI, France, 184 p.

RAI, L.C., GAUR, J.P. et KUMAR, H.D. (1981).

Phycology and heavy metal pollution. Biol. Rev., 56: 99-151.

REHNBERG, B.G., SCHULTZ, D.A. et RASCHKE, R.L. (1982).

Limitations of electronic particule counting in reference to algal assays. J. Wat. Pollut. Control Fed., 54: 181-186.

ROY, S. et LEGENDRE, L. (1979).

DCMU-Enhanced fluorescence as an index of photosynthetic activity in phytoplankton. Marine Biol., 55: 93-101.

VAN COILLIE, R., COUTURE, P., SCHOENERT, R. et THELLEN, C. (1982).

Mise au point d'une évaluation rapide de la toxicité originale des effluents et de leurs composantes à l'aide d'algues. INRS-Eau, Québec, rapport scientifique no 148, 130 p.

WHITE, E. et PAYNE, G. (1980).

Distribution and biological availability of reactive high molecular weight phosphorus in natural waters in New-Zealand. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37: 664-669.

WHITE, E., PAYNE, G. et PICKMERE, S. (1981).

Orthophosphate and its flux in lake waters. Can. J. Fish. Aquat. Sci.,
38: 1215-1219.

ANNEXE 8

TESTS FAITS AVEC DES CULTURES CELLULAIRES EN VUE DE LA
CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE DES EAUX DES CINQ SITES

par
F. Denizeau
Université du Québec à Montréal
Département de Chimie
C.P. 8888, Succursale 'A'
Montréal, Québec.
H3C 3P8

INTRODUCTION

Nous avons récemment utilisé des cellules de truite arc-en-ciel ainsi que des cellules humaines dans le développement d'un nouveau type de bioessai servant à évaluer la qualité de l'eau (Marion et Denizeau, 1982; Denizeau, 1982). Nous avons évalué le potentiel du système de cellules en culture pour la détection des effets toxiques de contaminants aquatiques en soumettant les cellules à des polluants représentatifs: le plomb, le cadmium et les PCB. En examinant les données obtenues in vitro à la lumière des données in vivo déjà disponibles, la fiabilité du système est apparue comme étant très satisfaisante. Le but du présent travail est de poursuivre la validation du système de cellules en culture en examinant la cytotoxicité d'échantillons d'eaux usées prélevées dans l'environnement (dont la nature chimique aussi bien que l'origine ou le mode de prélèvement nous sont inconnus). La réponse des cellules en culture sera éventuellement confrontée à celle d'un certain nombre d'autres organismes. Au cours des expériences antérieures, nous avons déterminé que parmi tous les paramètres biochimiques mesurés au cours de la croissance des cellules (protéines, ADN et ARN totaux; incorporation de [^3H] thymidine et [^{14}C] uridine) le contenu en protéines totales s'est avéré être le paramètre de choix. Quoique n'étant pas un indicateur aussi précoce que l'incorporation des précurseurs marqués, le profil protéique correspond toujours d'assez près à ceux des acides nucléiques; mais son principal avantage repose sur le fait qu'il soit obtenu rapidement à partir d'un dosage très simple, sensible et reproductible. Nous avons donc pour cette étude choisi de déterminer l'évolution du contenu en protéines totales en fonction du temps de cellules dérivées des gonades de la truite arc-en-ciel (RTG-2) et dérivées de l'épithélium de la peau humaine (NCTC 2544) exposées aux échantillons A,B,C,D,E en cours de croissance.

MATERIEL ET METHODES

Culture des cellules

Cellules RTG-2

Les cellules RTG-2 ont été obtenues de l'American Type Culture Collection, Rockville, Maryland (ATCC, CCL 55). Elles ont été maintenues selon la méthode déjà décrite (Denizeau, 1982). Les cellules ont été cultivées dans du milieu minimal essentiel (MEM) additionné de 10% de sérum de veau foetal (Gibco) (SVF) et incubées à 15°C dans une atmosphère saturée d'humidité contenant 5% de CO₂.

Cellules NCTC 2544

Les cellules NCTC 2544 ont été obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC, CCL 19). Elles ont été cultivées dans du milieu NCTC 135 contenant 10% de sérum de veau foetal et incubées à une température de 37°C dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau et dont la teneur en CO₂ était de 5%. Les passages ont été effectués périodiquement selon la méthode décrite antérieurement (Denizeau, 1982).

Préparation des milieux

Immédiatement après la réception, les milieux ont été traités de la façon suivante: ceux-ci ont d'abord été filtrés une première fois à travers un papier Whatman no. 1 pour éliminer les particules en suspension. Ensuite les milieux ont été stérilisés par filtration sur membrane (Nalgene, porosité de 0.20 µm) et placés à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation. Pour les essais sur les cellules la quantité requise de MEM et de SVF (pour

obtenir 1% en volume) a été ajoutée aux échantillons stériles et le volume a été complété avec de l'eau bidistillée et déminéralisée de façon à diluer l'échantillon par le facteur choisi. Le tout a été stérilisé par filtration sur membrane avant l'incubation avec les cellules.

Tests sur les cellules

Les bioessais ont été effectués de la façon suivante: des pétris de 60 mm de diamètre (Corning) ont été inoculés avec 10^5 cellules RTG-2 ou 5×10^4 cellules NCTC 2544 en suspension dans 4.4 ml de MEM-10%SVF. Deux jours (pour RTG-2) ou 1 jour (pour NCTC 2544) après la mise en pétri, les cellules ont été lavées 3 fois avec du MEM seul et 4.4 ml de milieu frais (échantillon dilué contenant du MEM et 1% de SVF ou MEM avec 1% de SVF pour les contrôles) ont été ajoutés. C'est ce qui correspond au jour 0 de l'expérience. Subséquentement, lors du déroulement du protocole, les milieux ont été renouvelés tous les deux jours (RTG-2) ou quotidiennement (NCTC 2544). Trois boîtes de pétri ont été utilisées pour chacune des conditions expérimentales à un jour donné.

Extraction et dosage des protéines

La méthode d'extraction des protéines a été la suivante: le milieu de culture a été aspiré et les cellules ont été lavées 3 fois avec 2 ml d'une solution de sels isotonique (mélange d'Earle). A chaque boîte de pétri ont été ensuite ajoutés 2 ml de NaOH 0.3 N; les échantillons ont été incubés pendant 60 min. à 37°C. De cet extrait, on a prélevé les aliquotes pour le dosage des protéines qui fut effectué selon la micro-méthode de Bradford (1976) comme suit: vingt-cinq à 100 µl d'extrait sont placés dans

un tube et le volume est porté à 100 μ l si nécessaire avec du NaOH 0.3 N. Sept cents μ l d'eau distillée sont ajoutés à tous les échantillons; finalement, 200 μ l de réactif sont introduits dans chaque tube. Après agitation, la densité optique est lue à 595 nm.

RESULTATS

Cytotoxicité des échantillons A,B,C,D et E envers les cellules RTG-2

Une expérience préliminaire basée sur l'observation des cellules au microscope a servi à déterminer le facteur de dilution approprié. Cette expérience a montré qu'à une dilution échantillon: MEM-SVF de 1:1, des effets notables sur la morphologie cellulaire ont pu être enregistrés avec la plupart des échantillons après une période d'exposition minimale d'environ 8 jours. Cette dilution a été retenue pour l'étude biochimique. Les résultats obtenus par la mesure des protéines totales apparaissent au tableau I. Ceux-ci ont été portés en graphique et sont présentés à la figure I. Cette figure donne l'évolution de la quantité totale de protéines en fonction du temps. On remarque que dans le cas des échantillons A et D la toxicité se manifeste d'une manière nette à partir du jour 8. Dans le cas des échantillons B et E, ceci se produit un peu plus tard, soit au jour 12. En faisant abstraction du jour 12, l'échantillon C semble pour sa part avoir donné un profil similaire à celui du contrôle.

Cytotoxicité des échantillons A,B,C,D et E envers les cellules humaines

Afin de pouvoir mieux juger de la toxicité relative des échantillons vis-à-vis les deux types de cellules, le même facteur de dilution (1:1) a été

conservé pour l'étude avec les cellules humaines. Une démonstration préliminaire qualitative de la toxicité des échantillons ainsi dilués a d'abord été réalisée par l'examen au microscope des cultures exposées. Ce test ayant révélé des aberrations dans l'apparence des cultures traitées avec les échantillons les plus toxiques (A,B,D), on a pu procéder à l'évaluation biochimique quantitative. Comme précédemment, le contenu en protéines totales en fonction du temps a été mesuré pendant une période suffisamment longue pour que s'établisse le stade de confluence chez les contrôles. Les résultats obtenus sont présentés au tableau 2 et portés en graphique à la figure 2. On remarque que pour tous les échantillons, une nette déviation par rapport au contrôle est enregistrée au jour 4 et se maintient jusqu'à la fin de la période de croissance.

La figure 3 présente les données exprimées en pourcentage du contrôle au temps d'exposition maximal, i.e. le temps requis pour que soit atteinte une densité cellulaire maximale (confluence) chez les échantillons non traités; ce stade correspond à l'apparition de la 4^{ième} génération de cellules. En prenant le temps maximal comme point de référence, on peut supposer que l'ordre croissant de toxicité des échantillons serait:

système RTG-2: $C < B < A < E \approx D$

système NCTC 2544: $C < E < B < A < D$.

DISCUSSION

Considérons d'abord les données exprimées en pourcentage du contrôle pour les jours auxquels s'établit la confluence, soit aux jours 8 ou 16. Il apparaît que la toxicité relative des échantillons A,B,C et D dans

.../6

les deux systèmes, est la même. L'exception que constitue E peut être expliquée par la présence possible d'un agent dont la toxicité serait grande pour le poisson et presque nulle pour l'humain. La caractérisation chimique pourrait éventuellement aider à éclaircir ce point. Si on examine maintenant le degré de toxicité des échantillons A,B,D et E dans chacun des systèmes, il apparaît que l'inhibition de l'accroissement des protéines a été plus forte chez les cellules RTG-2 que chez les cellules NCTC 2544. On peut supposer une plus grande sensibilité des cellules de truite arc-en-ciel. Le temps d'exposition plus long dans le cas des cellules RTG-2 (quoique la température ait été beaucoup plus basse dans ce système: 15°C vs 37°C) a aussi pu être un facteur important.

Le profil de l'évolution du contenu en protéines nous renseigne sur la précocité avec laquelle les effets se manifestent. Si ce seul paramètre était considéré, l'ordre de toxicité relative pourrait changer en ce qui concerne les cellules RTG-2. Cependant, comme les effets cumulatifs sur un plus grand nombre de générations (possibilité d'au moins 4 générations dans notre système) sont de plus en plus au centre de nos préoccupations, il nous apparaît pertinent de considérer les données obtenues pour le temps d'exposition maximal comme étant prioritairement significatives. Dans l'application éventuelle d'un tel bioessai, ce seul temps pourrait alors être retenu. Ceci permettrait d'optimiser la qualité de l'information tout en recherchant un coût minimal pour chacune des analyses.

.../

BIBLIOGRAPHIE

- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analyt. Biochem. 72, 248-254.
- Denizeau, F., 1982. Développement d'un nouveau type de bioessai servant à évaluer la qualité de l'eau par l'emploi de cellules animales cultivées in vitro. Environnement Canada, 61 pp.
- Marion, M. and F. Denizeau, 1982. Rainbow trout and human cells in culture for the evaluation of the toxicity of aquatic pollutants: a study with lead. Aquatic Toxicol. In press.

TABLEAU I: Cytotoxicité des échantillons A,B,C,D,E
envers les cellules RTG-2

Protéines totales *									
	J = 0	J = 2	J = 4	J = 6	J = 8	J = 10	J = 12	J = 14	J = 16
Contrôle	67.1 ± 2.5	61.1 ± 8.1	72.4 ± 3.6	83.4 ± 2.9	116.5 ± 8.0	97.1 ± 8.9	127.7 ± 10.6	181.1 ± 11.6	257.9 ± 7.1
A		59.6 ± 3.0	66.3 ± 4.4	72.5 ± 0.5	61.8 ± 2.6	51.3 ± 1.6	53.8 ± 5.7	41.6 ± 2.9	46.9 ± 2.9
B		60.7 ± 2.4	66.4 ± 3.2	67.4 ± 4.2	106.7 ± 6.8	94.2 ± 1.5	101.7 ± 7.9	64.3 ± 2.3	87.3 ± 7.4
C		61.6 ± 4.2	71.5 ± 3.6	63.5 ± 5.8	133.2 ± 2.1	110.8 ± 6.5	77.5 ± 6.8	182.5 ± 8.7	238.9 ± 7.5
D		57.5 ± 2.2	62.0 ± 3.6	49.2 ± 0.5	49.5 ± 2.7	47.0 ± 2.4	33.3 ± 2.3	38.1 ± 0.4	36.7 ± 3.3
E		54.6 ± 2.0	67.8 ± 1.8	61.1 ± 4.8	104.2 ± 9.4	95.5 ± 3.2	60.7 ± 1.7	39.4 ± 2.0	38.2 ± 2.7

* Moyennes et écarts-types pour 3 boîtes de pétri.

TABLEAU II: Cytotoxicité des échantillons A,B,C,D,E
 envers les cellules NCTC 2544

Protéines totales * (μ g)									
	J = 0	J = 1	J = 2	J = 3	J = 4	J = 5	J = 6	J = 7	J = 8
Contrôle	62.4 $\pm$ 2.6	65.2 $\pm$ 1.2	87.6 $\pm$ 2.6	119.6 $\pm$ 2.1	262.3 $\pm$ 7.4	276.4 $\pm$ 7.5	285.3 $\pm$ 9.6	422.3 $\pm$ 4.4	627.0 $\pm$ 3.2
A		64.7 $\pm$ 6.1	74.2 $\pm$ 5.3	93.6 $\pm$ 4.2	198.2 $\pm$ 7.4	201.3 $\pm$ 4.0	172.8 $\pm$ 10.6	221.4 $\pm$ 31.2	311.5 $\pm$ 24.9
B		60.2 $\pm$ 3.1	64.8 $\pm$ 8.8	97.0 $\pm$ 4.5	190.0 $\pm$ 9.8	202.5 $\pm$ 7.4	187.3 $\pm$ 14.7	317.0 $\pm$ 13.5	420.2 $\pm$ 6.9
C		49.2 $\pm$ 1.4	66.7 $\pm$ 5.5	94.3 $\pm$ 3.0	200.7 $\pm$ 3.0	249.6 $\pm$ 22.4	230.6 $\pm$ 7.7	347.0 $\pm$ 31.2	574.5 $\pm$ 11.5
D		48.6 $\pm$ 3.8	63.9 $\pm$ 4.2	78.8 $\pm$ 3.8	139.6 $\pm$ 6.0	164.6 $\pm$ 12.1	122.8 $\pm$ 2.6	172.3 $\pm$ 17.8	231.6 $\pm$ 19.4
E		51.0 $\pm$ 6.4	72.4 $\pm$ 3.4	88.1 $\pm$ 5.1	209.3 $\pm$ 9.5	239.6 $\pm$ 10.1	228.9 $\pm$ 22.1	364.3 $\pm$ 17.6	544.0 $\pm$ 8.0

* Moyennes et écarts-types pour 3 boîtes de pétri.

Figure 1: Profil de l'évolution de la quantité totale de protéines en fonction du temps pour les cellules RTG-2 cultivées en présence des échantillons A,B,C,D,E.

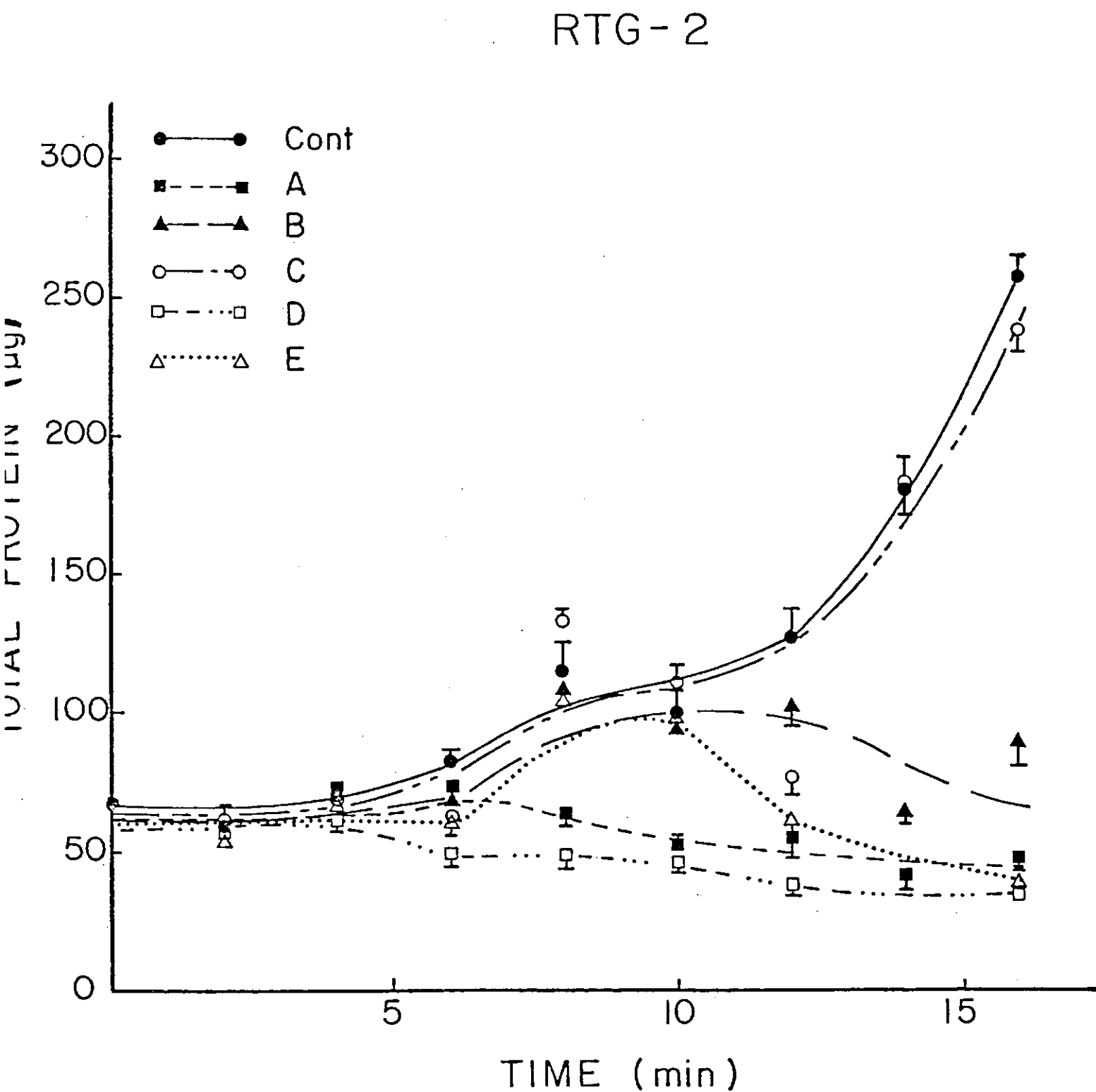
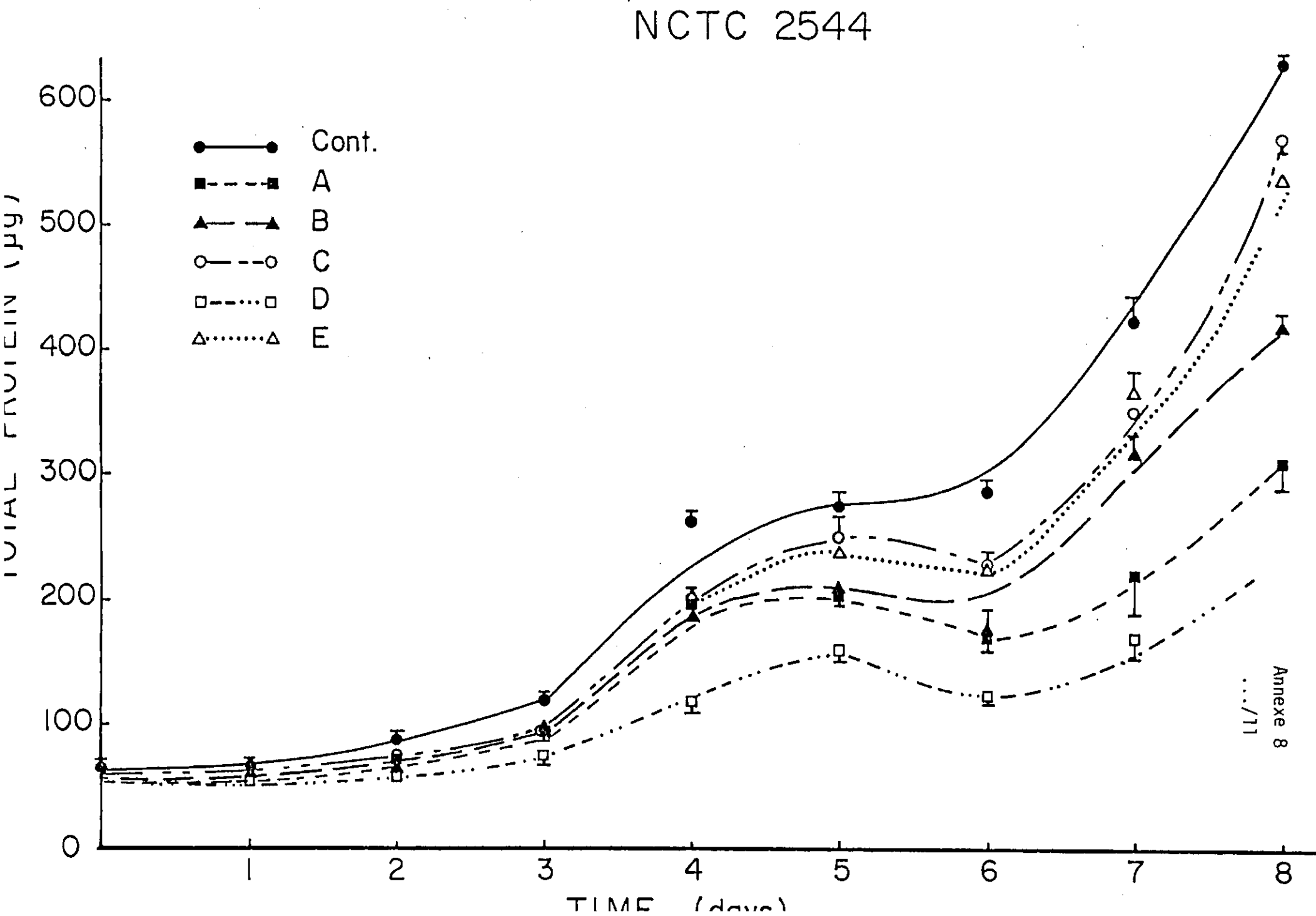


Figure 2. Profil de l'évolution de la quantité totale de protéines en fonction du temps pour les cellules NCTC 2544 cultivées en présence des échantillons A,B,C,D,E.



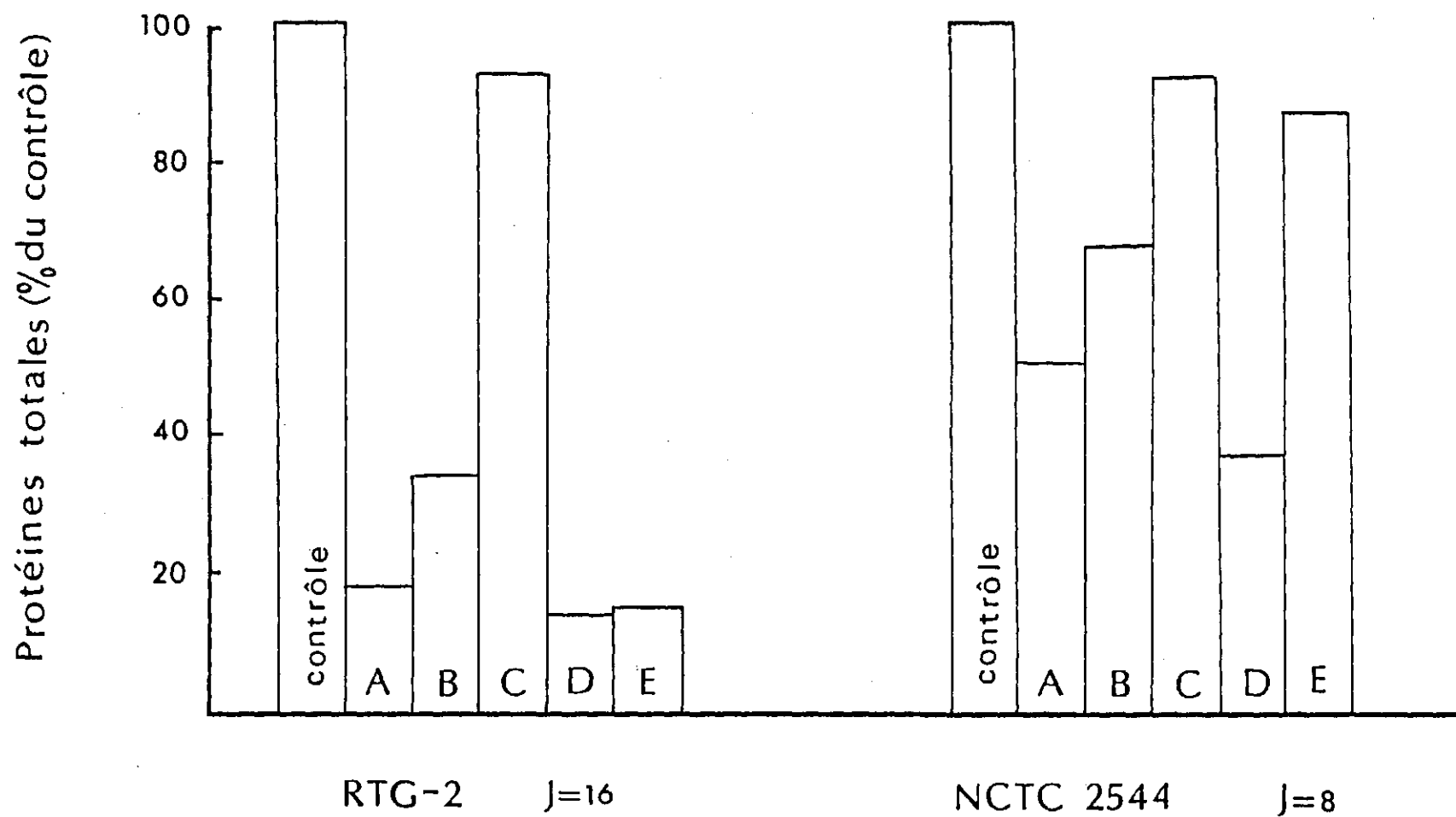


Figure 3: Pourcentage par rapport au contrôle du contenu en protéines totales des cultures RTG-2 et NCTC 2544 après le temps d'exposition maximal.