



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

présentée devant

L'UNIVERSITÉ DE METZ

UFR Sciences Fondamentales et Appliquées

Pour l'obtention du grade de Docteur

Spécialité : Toxicologie de l'Environnement

par

Manon BOMBARDIER

Développement d'outils écotoxicologiques pour l'évaluation de sédiments

Soutenue le 27 avril 2007 devant la commission d'examen suivante :

Co-directeurs de thèse	M. C. BLAISE	Chercheur, Environnement Canada et professeur associé, UQAR, Québec, Canada
	Mme P. VASSEUR	Professeur, Université de Metz
Rapporteurs	Mme. C. AMIARD- TRIQUET	Professeur, Université de Nantes
	M. P. JUNEAU	Professeur, Université du Québec à Montréal, Canada
Examineur	M. J.-F. FÉRARD	Professeur, Université de Metz

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Christian Blaise, Chercheur scientifique au Centre Saint-Laurent d'Environnement Canada et co-directeur de cette thèse, qui m'a fait confiance en me proposant ce sujet qui s'inscrit dans la continuité du travail amorcé lors de mon séjour au Centre Saint-Laurent. Étant donné ses grandes connaissances en toxicologie de l'environnement, plus particulièrement dans le développement, la validation, la normalisation et l'application de micro-bioessais, ce fut un honneur pour moi de travailler avec Christian. Je lui suis également très reconnaissante de m'avoir si bien soutenue tout au long de ce travail.

Ce travail n'aurait également pas été possible si Norman Bermingham et Raymond Vezeau ne m'avaient pas accueillie au sein de leur équipe de laboratoire. Je les en remercie du fond du cœur.

Un grand merci également à Paule Vasseur, Professeur de Toxicologie à l'Université de Metz, pour avoir accepté de co-diriger cette thèse et pour ses conseils si précieux à tous les niveaux de ce travail. Je suis également très reconnaissante à Madame Claude Amiard-Triquet de l'Université de Nantes, ainsi qu'à Monsieur Philippe Juneau de l'Université du Québec à Montréal, pour avoir accepté de juger ce travail. Je suis également honorée que Monsieur Jean-François Féraud, Professeur de Toxicologie à l'Université de Metz ait accepté de participer au jury de thèse.

Ma reconnaissance va également à ceux et celles qui ont, soit participé aux prélèvements sur le terrain, soit conduit des analyses en laboratoire et qui ont su me faire partager leurs connaissances en méthodes de laboratoire et leur passion. Des remerciements particuliers vont à Manon Harwood qui a consacré beaucoup de son temps à m'apprendre diverses techniques de laboratoire et en particulier le test d'algue, Richard Legault pour son transfert de connaissances pratiques et théoriques sur les essais de génotoxicité, Sylvain Trottier pour m'avoir fait découvrir le test hydre, Lucie Ménard pour ses enseignements

sur l'essai algal en phase solide-humide, François Gagné pour ses conseils en recherche, Nathalie Chèvre pour le partage de son expérience sur le développement d'indices écotoxicologiques, Christine Girard et Édith Francoeur pour leur collaboration technique à plusieurs niveaux de ce travail, André Fouquet pour ses conseils en méthode d'extraction organique, ainsi qu'à Paul White pour ses conseils en analyse statistique et en rédaction scientifique.

Je ne peux compléter ces remerciements sans dire quelques mots à ma famille. D'abord à ma mère qui m'a tellement fait confiance tout au long de ces années et qui a été et demeure pour moi le symbole de la persévérance – merci Maman. A ma tante Micheline également qui malgré la distance m'a toujours encouragée. A mes sœurs, Lyne et Guylaine, qui ont toujours cru en mes capacités. A mes beaux-parents Alice et Makhlouf pour leur générosité sans borne et leur support depuis toutes ces années. Une pensée très émue pour mes enfants, Isaac et Jacob, qui m'apportent tant de joie même dans les moments difficiles. Enfin, et non le moindre, j'aimerais te remercier Joseph pour ton amour, ta confiance, ton inestimable soutien et surtout ta patience (merci d'avoir enduré mes sautes d'humeur!) qui m'ont aidé à mener à terme ce travail. Sans toi, je n'y serais jamais arrivée.

*Je dédie cette thèse à ma très chère tante,
Adéline Pilon,
Qui m'a permis de prendre goût aux voyages
Et qui m'a inspirée,
Par son exemple,
À croire en mes capacités.*

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	vii
Liste des Tableaux	xii
Liste des Figures	xiv
RÉSUMÉ	xvi
ABSTRACT	xviii
ABRÉVIATIONS	xx
CHAPITRE UN	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
<i>1.1 Sédiments</i>	<i>2</i>
<i>1.2 Programmes d'évaluation et de gestion des sédiments contaminés</i>	<i>4</i>
1.2.1 Perspective Canadienne.....	5
1.2.2 Perspective Française.....	6
<i>1.3 ObjectifS et structure de la thèse</i>	<i>7</i>
CHAPITRE DEUX	10
LES PILIERS DE L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES SÉDIMENTS	10
<i>2.1 indicateurs chimiques</i>	<i>11</i>
2.1.1 Outils d'évaluation	12
2.1.2 Avantages et désavantages.....	18
<i>2.2 indicateurs biologiques</i>	<i>19</i>
2.2.1 Outils d'évaluation	19
2.2.2 Avantages et désavantages.....	22
<i>2.3 Indicateurs toxicologiques</i>	<i>23</i>
2.3.1 Micro-bioessais sur espèces uniques.....	26
2.3.2 Biomarqueurs : Indices biochimiques.....	28
2.3.3 Biomarqueurs : Réponses génotoxiques.....	30
2.3.4 Macro-bioessais sur espèces uniques.....	31
2.3.5 Phases sédimentaires.....	33
2.3.6 Batteries de tests.....	36
2.3.7 Avantages et désavantages des bioessais.....	38

2.3.8 Outils d'évaluation : les indices de toxicité.....	39
2.3.9 Avantages et désavantages des indices intégrateurs.....	41
2.4 COMPLÉMENTARITÉ DES TROIS PRINCIPAUX TYPES D'INDICATEURS.....	43
CHAPITRE TROIS.....	45
Élaboration de l'Indice SED-TOX.....	45
3.1 L'INDICE SED-TOX : HISTORIQUE.....	45
3.2 L'indice sed-tox : Description générale.....	48
3.3 Prélèvement des sédiments et préparation des phases d'exposition	48
3.4 Sélection des paramètres de mesure.....	54
3.4.1 Incidences d'effets.....	54
3.4.2 Concentration seuil d'effet (CSE).....	54
3.4.3 Prédiction dérivée d'une relation de concentration-réponse.....	55
3.5 Description détaillée de l'indice sed-tox.....	55
3.5.1 Conversion des données.....	56
3.5.1.1 Conversion en Unités Toxiques.....	56
3.5.1.2 Expression des Unités Toxiques en Fonction du Poids Sec de Sédiments	57
3.5.1.3 Conversion des UT en fonction de la masse sèche de sédiments (UTsec).....	58
3.5.1.4 Conversion en Facteur d'Accroissement de la Toxicité (Fac).....	58
3.5.2 Intégration des données.....	60
Chapitre QUATRE.....	63
Mise au point d'un essai de génotoxicité sur extraits organiques de sédiments.....	63
4.1 Justification des méthodes, solvants et matériel employés pour la préparation des extraits organiques	65
4.2 principes des tests de gÉnotoxicité sélectionnés.....	66
4.3 Matériel et méthodes.....	66
4.3.1 Sélection et prélèvement des échantillons de sédiments.....	66
4.3.1.1 Sédiments de la baie des Anglais.....	67
4.3.1.2 Sédiments de référence certifiés pour les BPC - HS-2.....	68
4.3.1.3 Sédiments de référence certifiés pour les HAP - HS-3.....	68
4.3.2 Extraction organique, concentration et fractionnement	68
4.3.3 Bioessais.....	71
4.3.3.1 Préparation des extraits.....	71
4.3.3.2 Gammes de concentrations testées.....	72
4.3.3.3 Critères de comparaison des bioessais.....	73
4.4 Résultats et Discussion.....	74
4.4.1 Toxicité, génotoxicité et mutagénicité des extraits.....	74
4.4.1.1 Blancs d'extraction.....	74
4.4.1.2 Comparaison des fractions des extraits organiques de sédiments.....	76
4.4.1.3 Influence du S9.....	81

4.4.1.4 Potentiel de discrimination des tests de génotoxicité.....	83
4.4.1.5 Concordance des tests de génotoxicité.....	84
4.4.2 Considérations scientifiques et pratiques.....	86
4.4.2.1 Reconnaissance par la communauté scientifique.....	86
4.4.2.2 Simplicité.....	87
4.4.2.3 Coûts.....	87
4.4.2.4 Autres considérations.....	88
4.5 Conclusion.....	88
Chapitre cinq.....	89
Application du SED-TOX à des Sédiments marins.....	89
5.1 Caractérisation bioanalytique.....	90
5.2 Analyses physico-chimiques.....	91
5.3 Résultats bruts et traitement des données.....	92
5.3.1 Comparaison des Indices SED-TOX.....	95
5.3.2 Corrélations entre les teneurs en contaminants et les indices SED-TOX.....	98
5.3.3 Avantages et limitations du SED-TOX sédiment.....	102
5.4 Conclusion et recommandations.....	103
CHAPITRE SIX.....	105
Application du SED-TOX à des sédiments lacustres et validation.....	105
6.1 Introduction.....	105
6.2 matériel et méthodes.....	105
6.2.1 Échantillonnage.....	105
6.2.2 Analyses chimiques.....	107
6.2.3 Bioessais.....	107
6.2.4 Communautés Benthiques.....	110
6.3 Analyses des résultats.....	111
6.4 Résultats et discussion.....	112
6.4.1 Analyses chimiques.....	112
6.4.2 Bioessais.....	112
6.4.3 Communautés benthiques.....	117
6.4.4 Relation entre les résultats chimiques et bioanalytiques.....	118
6.4.5 Relation entre les mesures bioanalytiques et benthiques.....	120
6.5 Conclusion.....	123
Chapitre SEPT.....	125
CONCLUSION.....	125
7.1synthèse des résultats.....	125

7.2 perspectives d'AMÉLIORATIONS POSSIBLES.....	127
Bibliographie.....	129
Annexe 1 – Conditions Suivies pour la Réalisation des Bioessais.....	154
A. <i>Microtox</i> ®.....	154
Organismes d'essai.....	155
Conditions d'essai.....	155
B. <i>Toxi-ChromotestMC</i>	156
Organismes d'essai.....	156
Conditions d'essai.....	156
C. <i>Essais de génotoxicité</i>	157
SOS Chromotest.....	157
Organismes d'essai.....	158
Conditions d'essai.....	159
Mutatox 160	
Test de fluctuation.....	162
D. <i>Bioessai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce selenastrum capricornutum (renommée Raphidocelis subcapitata et Pseudokirchneriella subcapitata)</i>	163
Organismes d'essai.....	164
Conditions d'élevage.....	164
Conditions d'essai.....	165
E. <i>Bioessai Hydra attenuata</i>	166
Organismes d'essai.....	166
Conditions d'élevage.....	166
Conditions d'essai.....	167
F. <i>Bioessai Oursin</i>	168
Organismes d'essai.....	169
Conditions d'élevage.....	169
Conditions d'essai.....	170
G. <i>Bioessai Chironomus Riparius</i>	170
Organismes d'essai.....	170
Conditions d'élevage.....	171
Conditions d'essai.....	172
H. <i>Hyallolella azteca</i>	173
Organismes d'essai.....	174
Conditions d'élevage.....	174
Conditions d'essai.....	175
I. <i>Amphiporeia virginiana</i>	176
Organismes d'essai.....	176
Conditions d'élevage.....	176
Conditions d'essai.....	176

Annexe 2 – The SED-TOX Index for Toxicity Assessment of Contaminated Solid Matrices. (Bombardier, 2005).....	179
Annexe 3 – Illustration des Calculs du SED-TOX.....	181
Annexe 4 – Evaluation of an SOS-Chromotest-based Approach for the Isolation and Detection of Sediment-associated Genotoxins (Bombardier et al., 2001).....	187
Annexe 5 – Composition chimique en contaminants organiques dans les sédiments à l’étude	189
Annexe 6 – The SED-TOX Index: Toxicity-directed Management Tool to Assess and Rank Sediments based on their Hazard – Concept and Application (Bombardier et Bermingham, 1999).....	192
Annexe 7 - Comparative Study of the Sediment-Toxicity Index, Benthic Community Metrics and Contaminant Concentrations (Bombardier et Blaise, 2000).....	194

Liste des Tableaux

Chapitre Deux

Tableau II.1 Forces et faiblesses des méthodes d'évaluation de la qualité des sédiments.....	43
Tableau III.1 : Avantages et inconvénients associés à l'évaluation de la toxicité de phases sédimentaires.....	49
Tableau IV.1 : Localisation des sites de la baie des Anglais.....	68
Tableau IV.2 : Concentrations en extraits organiques non fractionnés (F0) utilisées pour le SOS Chromotest.....	72
Tableau IV.3 : Nombre de réplicats et gammes de concentrations utilisés selon le type de bioessai.....	72
Tableau IV.4 : Réponses des tests de génotoxicité selon la nature de la fraction organique	76
Tableau IV.5 : Évaluation comparative du SOS Chromotest, du Mutatox et du test de fluctuation en fonction de considérations scientifiques, techniques et pratiques*.....	86
Tableau V.1 : Tests de toxicité utilisés pour évaluer les sédiments de l'Anse-à-Beaufils.....	91
Tableau V.2 : Sommaire des concentrations chimiques mesurées¹ dans les échantillons de sédiments (exprimés en termes de poids secs).....	92
Tableau V.3 : Toxicité des sédiment - résultats bruts.....	93
Tableau V.4 : Toxicité des sédiments - mesures exprimées en unités toxiques (poids sec¹)	94
Tableau V.5 : Toxicité des sédiments - facteurs d'accroissement de la toxicité (FAC) par rapport à la limite de détection	96
Tableau V.6 : Toxicité des sédiments - Indices fractionnels de toxicité moyenne relative (IFm) et indices SED-TOX	97
Tableau V.7 : Critères chimiques définis pour les sédiments du fleuve Saint-Laurent et teneurs en contaminants dans les sédiments de l'Anse-à-Beaufils.....	99
Tableau V.8 : Coefficients de corrélation de Spearman entre les indices SED-TOX et les teneurs en contaminants des sédiments de la zone de dragage et de référence.....	100
Tableau VI.1 : Conditions bioanalytiques employées et références bibliographiques.....	109

Tableau VI.2 : Valeurs associées aux paramètres de qualité de communautés benthiques et scores correspondants.....111

Tableau VI.4 : Sommaire des résultats bioanalytiques et indices SED-TOX obtenus114

Tableau VI.5 : Résultats obtenus à partir des mesures de communautés benthiquesa117

Liste des Figures

Chapitre Un

Figure I.1. Accumulation de toxiques dans le réseau trophique.....	3
Figure II.1. Exemple conceptuel des niveaux d'effet associé à un contaminant sédimentaire	14
Figure II.2. Calcul de la teneur de dépistage	16
(Tirée de EC et MENV, 1992).....	17
Figure II.3. <i>Dinophilus gyrociliatus</i> (Dinophilidae) adulte (tiré de Westheide, 1984).....	25
Figure II.4. Les cladocères utilisés dans les micro-bioessais	28
Figure II.5. Certains organismes utilisés dans les macro-bioessais.....	32
Figure III.2 : Schématisation simplifiée des fractions et composantes de la matrice sédimentaire	52
Figure IV.1 : Emplacement des sites d'échantillonnage pour les essais de génotoxicité.....	67
Figure IV.2 : Extraction, concentration et fractionnement des substances organiques de sédiments.....	70
Figure IV.3 : Réponses génotoxiques mesurées chez <i>V. fischeri</i> à de faibles concentrations de DCM et de DMSO.....	76
Figure IV.4a : Génotoxicité de sédiments de référence certifiés (HS-2 et HS-3).....	79
.....	80
Figure IV.4b : Génotoxicité de sédiments prélevés à trois sites de la baie des Anglais (BA-1, BA-2 et BA-3).....	80
Figure IV.5 : Influence du S9 sur le potentiel génotoxique des extraits organiques.....	82
Figure IV.6 : Distribution spatiale de la génotoxicité des extraits de sédiments de la baie des Anglais.....	83
Figure IV.7 : Pourcentage de concordance entre les tests de génotoxicité.....	85
Figure V.1: Emplacement des stations d'échantillonnage à l'Anse-à-Beaufils.....	89

Figure V.2 : Relation entre les teneurs en contaminants et les indices SED-TOX des matériaux de l'Anse-à-Beaufils.....	100
Figure VI.1 : Emplacement des sites d'échantillonnage de sédiments lacustres.....	106
Figure VI.2 : Relation entre les incidences de survie chez les amphipodes et chironomes et les indices SED-TOX	117
Figure VI.3 : Relation entre les niveaux de contamination chimique et les indices SED-TOX (r²=0,74; p < 0,0001).	119
Figure VI.4 : Relation entre les indices SED-TOX et les indices de qualité du benthos.	122
Figure A-1 : Signes d'intoxication à une matrice contaminée	168

RÉSUMÉ

Le développement de bioessais pour l'évaluation du potentiel écotoxique de sédiments contaminés est en constante évolution. Ces bioessais sont généralement utilisés dans le cadre d'une batterie bioanalytique, mais très peu d'outils existent pour intégrer les résultats de ces tests dans le but de comparer des sites entre eux et de prioriser les actions de gestion. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette thèse.

L'indice de danger écotoxique SED-TOX a été développé. Pour ce faire, nous avons identifié les bioessais pressentis pour la batterie qui servirait de base au développement de l'Indice. Il importait que cette batterie couvre une variété de phases sédimentaires (eau interstitielle, extrait organique, phase solide-humide, et sédiment entier), de niveaux trophiques (bactéries, algues, micro-invertébrés), ainsi que de types (aigu et chronique) et de niveaux (léta, subléta) de toxicité, afin d'en maximiser la sensibilité, le potentiel de discrimination, et la pertinence écologique. Il importait également que l'indice soit applicable à une diversité de sédiments, qu'ils proviennent de milieux lacustres ou marins.

Nous avons constaté, lors de la sélection des bioessais, qu'en dépit du nombre d'essais pouvant être réalisés sur des extraits aqueux (e.g., eau interstitielle, éluviats, extraits organiques) de sédiments, leur adéquation pour une utilisation en routine sur des extraits organiques n'avait pas été clairement démontrée. Nous avons donc élaboré une procédure d'extraction, de concentration et de fractionnement organique que nous avons couplée à trois essais de génotoxicité (SOS Chromotest^{MC}, Mutatox et fluctuation) dans le but de proposer une méthode efficace pour évaluer les effets associés aux contaminants organiques sur l'ADN des organismes exposés. Ces travaux ont démontré que lorsqu'il est appliqué à des sédiments présentant un gradient de contamination organique, le SOS Chromotest^{MC} réalisé sur la fraction F₂ (contenant des molécules de poids variant entre 250 et 800 unités de masse atomique) s'avérait le plus sensible et le plus discriminant des trois essais examinés.

Nous avons ensuite appliqué l'Indice à une série d'échantillons marins et deux séries distinctes d'échantillons dulçaquicoles, dans le but d'en examiner les trois aspects suivants:

- * Sa flexibilité : l'Indice est-il applicable à divers types de sédiments avec des batteries bioanalytiques différentes?
- * Son potentiel de discrimination: l'Indice permet-il de distinguer les sites pollués de ceux relativement exempts de contaminants?
- * Son potentiel prédictif: comment se compare l'Indice avec des mesures de perturbation de communautés benthiques?

Ces travaux ont démontré que :

- a. l'Indice est applicable à une variété de sédiments (i.e., dulçaquicoles et marins) et de batteries bioanalytiques;
- b. l'Indice permet la mise en évidence d'écarts significatifs entre le potentiel toxique de sédiments dont les niveaux de contamination varient, et d'en dériver des seuils de toxicité dans le but de les classer selon l'importance du danger qu'ils peuvent représenter pour des organismes aquatiques;
- c. les résultats du SED-TOX concordent avec des indices permettant de jauger la qualité du benthos. Ainsi, la mise en évidence de corrélations entre l'Indice SED-TOX et les indices de qualité du benthos suggère que le SED-TOX peut prédire la présence de sédiments de qualité suspecte dans le milieu. Ces résultats confortent donc l'emploi d'essais de laboratoire relativement simples couplés à des mesures d'effets variées capables de fournir des informations pertinentes pour la protection des milieux hydriques.

ABSTRACT

The development of bioassays for the assessment of the toxic potential of contaminated sediments is in constant evolution. These bioassays are generally used in the context of a battery. However, very few tools exist for the integration of their results for the comparison of sites and the prioritization of sediment management actions. It is in this context that this thesis has been prepared.

The SED-TOX index of ecotoxic hazard has been developed and validated. To achieve this, we identified the bioassays that would serve as the basis for the development of the Index. It was important that this battery covers a variety of sediment phases (e.g., interstitial water, organic extract, solid-humid phase, and whole sediment), trophic levels (e.g., bacteria, algae, microinvertebrates), toxicity types (i.e., acute and chronic) and levels (i.e., lethal, sublethal) to maximize its sensibility, potential for discrimination and ecological relevance. It was also critical that the Index be applicable to a wide variety of sediment type, whether they originate from marine or freshwater ecosystems.

During the bioassay selection process, we noted that, in spite of the large number of tests that can be performed on aqueous sediment extracts (e.g., interstitial water, elutriates, organic extracts), their adequacy for a routine application on organic extracts has not yet been clearly demonstrated. Hence, we have elaborated a protocol for the organic extraction, concentration, and fractionation of sediments, which has been coupled to three genotoxicity assays (SOS Chromotest^{MC}, Mutatox and fluctuation test) in order to propose an effective method for the evaluation of the effects associated with organic contaminants on DNA of exposed organisms. This work has demonstrated that, when applied to sediments taken at various stations along a gradient of organic contamination, the SOS Chromotest^{MC} conducted on the F₂ fraction (i.e., containing molecules whose weight varies between 250-800 atomic mass units) was the most sensitive and discriminatory of the three tests examined.

The Index was applied to a series of marine samples and to two distinct series of freshwater samples, to examine the following three aspects:

- * Its flexibility: is the Index applicable to diverse types of sediments and to different bioanalytical batteries?
- * Its discrimination potential: does the Index allow one to distinguish between polluted sites and those that are relatively uncontaminated?
- * Its predictive potential: how does the Index compare with measures of benthic community perturbations?

This work has shown that:

- a. the Index is applicable to a variety of sediments (i.e., freshwater and marine) and to different test batteries;
- b. the Index can reveal significant differences between the toxic potential of sediments whose contamination levels vary, that it can be used to derive toxicity levels that will assist in sorting sediment samples according to their hazard potential for aquatic organisms;
- c. the SED-TOX results correlate with indices that are used to gauge the quality of benthos. The identification of significant correlations between the SED-TOX index and indices of benthic quality suggest that the Index can be used for predicting degraded sediment quality in the field. These results also suggest that relatively simple laboratory tests using a variety of effect endpoints can provide information that, when coupled with species and community attributes, has direct relevance to the assessment of ecological hazards by anthropogenic stressors.

ABRÉVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARCS	Assessment and Remediation of Contaminated Sediments
ASTM	American Society for Testing and Materials
ASTP	Average Score per Taxon
BA	Baie des Anglais (Québec, Canada)
BEAST	Benthic Assessment of Sediment
BEEP	Barème d'effets écotoxiques potentiels
βgal	Beta galactosidase
BPC	Biphényles polychlorés
CAPT	Moyenne cumulée de la toxicité phasique
CBS	Chandler's Biotic Score
CCME	Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement
CEP	Concentration produisant un effet probable
C _{1p}	Concentration qui produit un niveau donné d'effet
C _{max}	Concentration de sédiments avant de procéder aux dilutions
C _{MEO}	Concentration minimale avec effets observés
CMI	Commission Mixte Internationale
COD	Carbone organique dissous
COP	Carbone organique particulaire
COT	Carbone organique total
CSE	Concentration seuil produisant un effet
C _{SEO}	Concentration sans effets observés
C _{tox}	Concentration correspondant au niveau d'effet évalué
D	Facteur de dilution requis pour obtenir la C _{max}
DAF	Diacétate de fluorescéine
DCM	Dichlorure de méthane
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EC	Environnement Canada
ECF	Extraction, concentration et fractionnement
EI	Eau interstitielle (ou de porosité)
EO	Extrait organique
EPT	Éphéméroptères, plécoptères, trichoptères
FAC	Facteur d'accroissement de la toxicité
GEODE	Groupe d'Étude et d'Observation sur le Dragage et l'Environnement

HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
IB	Indice biotique
IBI	Indice d'intégrité biotique
ICI	Indice des communautés d'invertébrés
IML	Institut Maurice Lamontagne (Québec, Canada)
ISO	Organisation internationale de normalisation
Koc	Coefficient de partage eau-matière organique
Kow	Coefficient de partage octanol-eau
Ltox	Limite de détection
N	Nombre total de paramètres d'effets composant la batterie bioanalytique
NSTP	National Status and Trends Program
OC	Organochlorés
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
Pal	Phosphatase alcaline
PASL	Plan d'Action Saint-Laurent
PCDD/PCDF	Dibenzoparadioxines polychlorées et les dibenzofuranes polychlorés
PNETOX	Programme National de Recherche en Écotoxicologie
R	Facteur de redondance
RCQS	Recommandations canadiennes pour la qualité des sédiments
Rm	Humidité résiduelle
Rmax	Valeur maximale de survie possible
Rtox	Valeur maximale de survie calculée
SE	Sédiment entier
SEM	Seuil d'effets mineurs
SEN	Seuil d'effets néfastes
SH	Phase solide-humide
SIGNAL	Stream Invertebrate Grade Number Average Level
SLV 2000	Saint-Laurent Vision 2000
SQMCI	Semi-Quantitative Macroinvertebrate Community Index
SRC	Sédiments de référence certifiés
SSE	Seuil sans effet
SVMA	Sulfures volatils en milieu acide
TBI	Trent Biotic Index
TIE	Procédure d'évaluation et d'identification de la toxicité
Tm	Humidité totale
TTSD	Test de toxicité avec dopage
UE	Union Européenne
US ACE	US Army Corps of Engineers

	U.S. Environmental Protection Agency
UT	Unité toxique
WAPT	Moyenne pondérée de la toxicité phasique
X	Eau interstitielle centrifugée
Y	Eau interstitielle non centrifugée
Z	sédiment sec

CHAPITRE UN

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Historiquement, les préoccupations liées à la santé humaine et la gestion des ressources aquatiques ont été à l'origine des activités entreprises en matière de qualité de l'eau (e.g. les recommandations assurant la qualité de l'eau potable). En effet, les premiers efforts d'évaluation de la qualité et de gestion des ressources aquatiques étaient souvent dirigés de façon à assurer la potabilité des eaux de surface et des eaux souterraines. Ensuite, les initiatives de gestion se sont portées sur la protection d'autres aspects des usages de l'eau, visant notamment le maintien des organismes dulçaquicoles et marins, sans toutefois oublier ceux requis pour la plaisance, l'esthétique, l'irrigation, la navigation, et la demande industrielle.

Pour assurer ces usages divers, des critères physico-chimiques de qualité ont été établis dans plusieurs pays, dont le Canada et la France. Ces critères sont généralement établis en tenant compte des relations démontrées entre les concentrations chimiques et les données de toxicité obtenues en laboratoire. En plus de servir de valeurs repères pour la protection des organismes de systèmes hydriques, ces critères ont aussi été exploités pour l'interprétation de données historiques, pour l'identification de zones potentiellement contaminées, pour l'établissement de programmes de surveillance, ou encore pour déclencher une action réglementaire. Alors que ces efforts orientés exclusivement sur l'atteinte des critères de qualité de l'eau au cours des dernières décennies ont collectivement contribué à améliorer la qualité de l'eau de surface, ils n'ont cependant pas réussi à assurer pleinement la protection de la biodiversité des écosystèmes aquatiques.

1.1 SÉDIMENTS

Depuis plus récemment, les sédiments - partie intégrante des écosystèmes aquatiques - font l'objet d'une attention particulière. Les sédiments, ou dépôts retrouvés au fond des cours d'eau, sont composés de matières particulaires (de différentes tailles, formes et composition minéralogique) de diverses origines (p. ex., terrigènes, organogènes, authigènes).

Bien qu'ils fournissent un habitat qui supporte de nombreuses populations d'organismes, les sédiments peuvent également servir de récepteurs naturels pour certains contaminants qui s'y accumulent avec le temps. Les métaux, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polybiphényles chlorés (PCB), et les pesticides organochlorés (OC), qui ne se retrouvent qu'en concentrations traces dans l'eau, constituent des exemples de substances toxiques et hydrophobes, qui ont tendance à s'accumuler dans la phase sédimentaire. Malgré l'interdiction d'emploi de certains de ces polluants en Amérique du Nord depuis plus de 30 ans, ils continuent à poser des problèmes du fait de leur persistance dans l'environnement. D'autres substances sont introduites dans les cours d'eau par les activités industrielles, urbaines et agricoles, ainsi que par transport atmosphérique. Les sédiments peuvent donc représenter une source importante de contaminants pour les communautés biologiques qui y résident ou qui les fréquentent (Larsson, 1985; Salomons *et al.*, 1987; Loring et Rantala, 1992), lesquelles peuvent alors constituer un risque pour la santé humaine (e.g., consommation de mollusques ou de poissons de fond contaminés).

La contamination des sédiments représente un enjeu environnemental capital, et ce, pour plusieurs raisons. D'abord, la présence de contaminants chimiques dans les sédiments a été liée à divers effets néfastes chez les plantes et les animaux qui sont associés aux sédiments. Une exposition à des sédiments contaminés peut en effet avoir des impacts sur la survie, la croissance, la reproduction et d'autres fonctions biologiques essentielles. Ensuite, des concentrations tissulaires élevées chez les organismes benthiques ou d'autres organismes aquatiques peuvent se traduire par une bioamplification de produits chimiques chez les organismes appartenant aux niveaux plus élevés de la chaîne

alimentaire aquatique (Figure I.1). La bioaccumulation des substances chimiques chez les organismes aquatiques constitue ainsi un risque potentiel pour les espèces sauvages vulnérables, ainsi que leurs prédateurs qui dépendent de ces organismes pour leur alimentation. Enfin, les sédiments contaminés peuvent également compromettre certaines utilisations de l'eau (e.g., baignade, consommation de l'eau ou consommation de poissons ou de sauvagines) et représenter un risque pour la santé humaine.

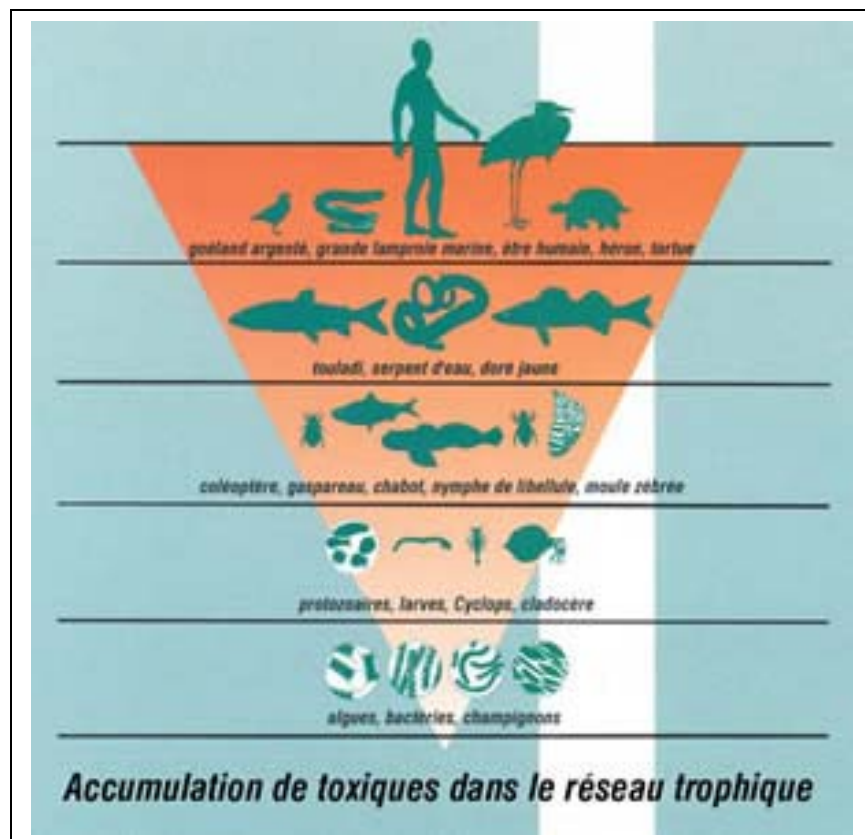


Figure I.1. Accumulation de toxiques dans le réseau trophique
(Tirée de CMI, 2002. Onzième rapport biennal sur la qualité de l'eau des Grands Lacs)

1.2 PROGRAMMES D'ÉVALUATION ET DE GESTION DES SÉDIMENTS CONTAMINÉS

L'importance de la qualité des sédiments, en relation avec la santé générale des écosystèmes aquatiques, n'est plus à démontrer. En revanche, les mesures correctrices requises pour la restauration de sédiments contaminés sont généralement coûteuses, tant d'un point de vue économique que technique.

C'est pour cette raison que les centres de recherche gouvernementaux et académiques s'efforcent à mettre au point des outils scientifiques pour identifier les sites sédimentaires contaminés, à déterminer l'ampleur de leur contamination, ainsi que les dangers qu'ils peuvent poser pour la faune aquatique et/ou la santé humaine. En bout de ligne, ces mesures servent à appuyer la prise de décisions et l'établissement de priorités pour une intervention éventuelle. Bien que les outils puissent varier, ils ont tous comme objectif d'évaluer la qualité des sédiments et d'en faciliter la gestion efficace.

Les explications qui suivent présentent un survol des programmes établis au Canada et en France au cours des années 1990-2000 pour l'évaluation des sédiments contaminés. Dans ce contexte, il est important de distinguer entre l'évaluation et la gestion des sédiments.

L'évaluation des sédiments a pour but de mesurer le degré de contamination à un endroit donné ainsi que le risque d'effets néfastes. Le choix de la méthode d'évaluation est, entre autres, fonction du temps et des technologies disponibles, de considérations financières, et de la mesure dans laquelle les divers outils d'évaluation conviennent selon la situation.

La gestion des sédiments a trait aux décisions qui sont prises en fonction des conclusions découlant de l'évaluation des sédiments, mais également des considérations politiques et socioéconomiques. La gestion des sédiments fait aussi intervenir l'élaboration et l'évaluation de mesures d'atténuation des risques (comme le nettoyage), la planification et le déploiement de mesures de surveillance «permanentes», le suivi et la

communication aux intéressés des risques associés à certains sédiments. Les outils disponibles et questions associées à la gestion des sédiments ne forment pas le propos de ce manuscrit. Le présent travail traite plutôt de l'évaluation du danger potentiel que présentent les sédiments contaminés pour la faune et la flore aquatique et propose des outils pour effectuer cette évaluation.

1.2.1 Perspective Canadienne

Le Gouvernement du Canada, en collaboration avec les gouvernements provinciaux et territoriaux, les organisations non gouvernementales, les industries et les collectivités locales, participe à un certain nombre d'initiatives qui visent à évaluer et à améliorer la qualité des écosystèmes aquatiques. C'est notamment le cas du Plan d'assainissement du littoral Atlantique, de l'Initiative de l'écosystème du bassin de Georgia, le programme des Grands Lacs 2000, de l'Initiative des écosystèmes du Nord, de l'Initiative des écosystèmes des rivières du Nord, et du Plan d'action Saint-Laurent (PASL). Cette section décrit brièvement les programmes qui concernent le bassin des Grands Lacs et le fleuve Saint-Laurent, les deux écosystèmes aquatiques majeurs au Canada.

Le programme des Grands Lacs, lancé en 1989, est un partenariat regroupant huit agences et ministères fédéraux qui travaillent ensemble pour veiller à ce que les engagements du gouvernement canadien dans le cadre de l'Accord Canada-États-Unis sur la qualité de l'eau dans les Grands Lacs soient atteints. L'Accord relatif à la qualité de l'eau dans les Grands Lacs (l'Accord) a été signé par les deux parties en 1972. Aujourd'hui, l'Accord reste l'une des ententes internationales les plus prévoyantes et constitue un modèle de coopération en recherche sur l'environnement et en gestion des écosystèmes aquatiques. La Commission Mixte Internationale, qui appuie les deux pays dans l'application de l'Accord, a désigné 43 sites comme étant très dégradés et où les utilisations bénéfiques sont altérées, tant pour la population que pour la faune. Par « utilisation bénéfique altérée », on entend notamment la perte de l'habitat du poisson et de la faune, la dégradation des populations de poissons et d'espèces fauniques, la présence indésirable d'algues et la fermeture forcée des plages. Onze d'entre eux sont situés au Canada et cinq sont une responsabilité conjointe du Canada et des États-Unis.

Deux secteurs situés au Canada ont été retirés de la liste des secteurs préoccupants après avoir été restaurés: le Havre Collingwood, en 1994, et Severn Sound, en 2003.

La Commission mixte internationale (CMI) doit faire une évaluation complète des progrès accomplis vers la réalisation des objectifs de l'Accord tous les deux ans. Le Douzième rapport biennal sur la qualité de l'eau dans les Grands Lacs publié en septembre 2004, est le fruit de sa plus récente évaluation (CMI, 2004).

Le fleuve Saint-Laurent constitue la porte d'accès reliant les Grands Lacs et l'océan Atlantique. En 1989, les gouvernements du Canada et du Québec ont décidé de coordonner et d'harmoniser leurs efforts afin de protéger et de conserver le fleuve dans le cadre d'une initiative, d'une durée de cinq ans, connue sous le nom de « Plan d'action Saint-Laurent » (PASL). Au terme de l'application du Plan, en mars 1993, des progrès importants avaient été accomplis, et les deux gouvernements ont décidé de poursuivre le plan dans une deuxième phase, baptisée « Saint-Laurent Vision 2000 » (SLV 2000). Le nouveau plan s'est donné comme mission de conserver et de protéger l'écosystème du Saint-Laurent afin d'en redonner les différents usages aux citoyens. C'est dans cette deuxième phase qu'un grand nombre d'études ont été entreprises pour évaluer la qualité des sédiments situés dans des emplacements jugés prioritaires, et pour développer des outils d'aide à la prise de décision, comme l'indice de toxicité SED-TOX, dont il est question dans ce manuscrit.

1.2.2 Perspective Française

Plusieurs études ont été menées en France au cours des années 1990 pour évaluer la qualité des sédiments. En 1997, l'Agence de l'eau Artois-Picardie a synthétisé les résultats d'analyses chimiques effectuées sur des sédiments prélevés entre 1991 et 1996 dans les cours d'eau. Cette étude a été réalisée dans le cadre de la surveillance des teneurs en métaux lourds présents dans les sédiments des cours d'eau principaux du bassin. En 2001, le CEMAGREF Lyon a rapporté les résultats d'études portant sur l'établissement de seuils de qualité pour les sédiments associés à des effets biologiques (Babut et al, 2001a,b; Bisson et al., 2000). L'observation de la qualité des cours d'eau, incluant la

phase sédimentaire a été, depuis 1971, prise en charge par l'Inventaire National du degré de Pollution des eaux superficielles (INP). Depuis 1987, ce dispositif a été optimisé et renforcé, et est devenu le Réseau National de Bassin (RNB). Le système actuel d'évaluation de la qualité des cours d'eau est le SEQ eau. Cette évaluation comporte trois volets d'application: caractérisation chimique, propriétés physiques, et communautés biologiques.

Sur le plan des sédiments de dragage, le groupe interministériel Géode (Groupe d'Etude et d'Observation des activités de Dragage sur l'Environnement), créé en 1990, a déterminé des valeurs de références permettant de qualifier un sédiment uniquement à l'aide des données chimiques (Lamy Environnement, 1996). Ces critères ont été retenus par la législation française pour déterminer la qualité des boues portuaires, des sédiments estuariens et côtiers (*Journal Officiel du 10 août 2000, Arrêté du 14 juin 2000*).

1.3 OBJECTIFS ET STRUCTURE DE LA THÈSE

Des outils sensibles, fiables, et rapides, ainsi que des points de repère en matière de qualité environnementale sont nécessaires pour appuyer les stratégies et programmes de d'évaluation et de gestion des sédiments contaminés, tels que ceux qui sont présentement établis en France et au Canada. Le développement de méthodes toxicologiques (*syn.* : bioessais, essais, tests de toxicité) a véritablement pris son essor durant les années 1980, où il a été fortement influencé par la réglementation. Le Canada a été l'un des premiers pays à utiliser les bioessais dans le cadre de ses programmes d'évaluation et de gestion des sédiments contaminés.

L'objectif de cet écrit est de présenter une approche intégrée d'évaluation de la toxicité des sédiments marins et lacustres, à l'aide d'une batterie de bioessais. Le travail a consisté à :

- sélectionner des bioessais sensibles,
- raffiner et à standardiser une méthode d'analyse du potentiel génotoxique des sédiments (le SOS Chromotest^{MC}) à partir d'extraits organiques,
- comprendre l'influence des contaminants présents dans les différentes phases sédimentaires sur la réponse globale de toxicité d'un échantillon, et

- proposer un indice toxicologique de la qualité des matrices solides contaminées, le SED-TOX.

Bien que l'accent soit mis sur l'évaluation de sédiments, les méthodes et l'indice SED-TOX proposé peuvent également s'appliquer à l'évaluation toxicologique d'échantillons de sols. Les résultats de recherche et les détails méthodologiques ont été publiés dans des revues scientifiques (Bombardier et Bermingham, 1999; Bombardier et Blaise, 2000; Bombardier, 2005).

Le développement de l'indice SED-TOX passe par deux grands axes. Le premier vise à appliquer, à partir de données dérivées d'une batterie de bioessais appliqués à deux sites de sédiments contaminés, un indice qui tiendra compte d'un facteur de pondération de certaines mesures. Le second consistera à appliquer l'indice sur des sites d'échantillonnage de sédiments de manière à le valider avec un jeu de données totalement indépendantes à celui qui a servi à sa construction. Les bioessais utilisés pour l'analyse écotoxicologique des sédiments couvrent une grande diversité d'organismes d'essais ainsi qu'une gamme variée de phases d'exposition. Les résultats de l'indice SED-TOX sont ensuite comparés aux niveaux de contamination chimique après analyses, ainsi qu'à des mesures structurelles des communautés d'invertébrés benthiques présentes dans les sédiments d'essai.

Cette thèse s'articule en sept chapitres qui suivent l'introduction :

- Tout d'abord, nous présentons une synthèse bibliographique des différentes approches pour l'évaluation de la qualité des sédiments (*Chapitre II*).
- Ensuite, nous exposons l'Indice SED-TOX et le détail des calculs (*Chapitre III*), ainsi que les différentes méthodes toxicologiques mises en œuvre tout au long de cette étude (Annexe 1). Pour le SOS Chromotest, notre objectif a été de raffiner la méthode de façon à permettre son application pour l'évaluation du potentiel génotoxique d'extraits organiques et d'apporter un certain niveau de standardisation afin d'assurer sa répétitivité (*Chapitre IV*).

- L'application de l'indice SED-TOX et de l'essai SOS Chromotest modifié dans une démarche d'évaluation de sédiments marins (*Chapitre V*) et lacustres (*Chapitre VI*) nous a permis d'examiner la sensibilité de ces outils, de caractériser leur potentiel à discriminer différents niveaux de contamination et à prédire des effets observés *in situ*.

- Nous proposons finalement, au *Chapitre VII*, une conclusion générale qui résume les résultats obtenus et suggère quelques améliorations possibles de l'Indice SED-TOX.

CHAPITRE DEUX

LES PILIERS DE L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES SÉDIMENTS

La structure, la composition et la diversité biologique des sédiments varient, même à un emplacement unique. Les différences physico-chimiques qui caractérisent les sédiments, comme la taille et la forme des grains et leur composition organique, peuvent influencer profondément la biodisponibilité et le degré de toxicité des contaminants qui leur sont associés. De plus, l'écologie des organismes benthiques varie à un tel point que les habitudes alimentaires, les exigences liées à l'habitat et la physiologie influencent l'exposition aux contaminants et l'assimilation par le benthos. Ces différences expliquent la diversité d'approches d'évaluation de la qualité des sédiments qui ont été mises au point jusqu'à présent.

Ce chapitre a pour but, dans un premier temps, de faire le point des connaissances actuelles sur différentes catégories d'indicateurs utilisés pour l'évaluation de la qualité des sédiments. Dans un deuxième temps, une revue des outils d'interprétation des données générées par les analyses toxicologiques en particulier, mais également des analyses chimiques et/ou biologiques est présentée.

On distingue trois principaux types d'indicateurs (ou sources de données) pour évaluer la qualité des sédiments:

- a. les indicateurs chimiques spécifiques à l'égard de certains contaminants;
- b. les indicateurs biologiques ou des communautés benthiques; et
- c. les indicateurs toxicologiques ou tests de toxicité.

2.1 INDICATEURS CHIMIQUES

Les données physico-chimiques représentent un élément fondamental de l'évaluation de la qualité des sédiments. Elles permettent de définir le degré de contamination des sédiments. La chimie des sédiments est sélectionnée de façon routinière comme l'un des indicateurs clé de la santé des écosystèmes dans la plupart des études de qualité des sédiments. Cependant, pour être utiles, les paramètres chimiques doivent être sélectionnés selon leur pertinence au site étudié. Le contexte historique est généralement un bon point de départ pour déterminer quels paramètres chimiques devraient être inclus dans l'analyse, puisqu'il apporte une certaine connaissance des polluants potentiellement présents dans la zone d'étude, et permet d'optimiser la stratégie d'échantillonnage du site, notamment par une meilleure répartition des points de prélèvement.

Les substances couramment analysées incluent les métaux traces, les HAP, les BPC, et plusieurs autres composés organiques [tel que les dioxines et furanes, les chlorophénols et les phtalates]. D'autres paramètres, tel que le carbone organique total (COT), la granulométrie, les sulfures volatiles en milieu acide (SVMA), l'azote ammoniacal, et les sulfures d'hydrogène devraient également être inclus dans la liste afin d'aider à l'interprétation des résultats des paramètres prioritaires. La liste finale des analytes à mesurer est aussi influencée par l'équipement et les technologies disponibles, ainsi que par le budget alloué à l'étude. Les concentrations sont généralement rapportées en poids sec (*e.g.*, mg/kg) et sont basées sur l'extraction totale des échantillons de sédiments. Dans certaines circonstances, les concentrations en contaminants organiques peuvent être normalisées en fonction des concentrations de COT (Swartz *et al.*, 1987; Tessier et Campbell, 1987; Di Toro *et al.*, 1991; Campbell et Tessier, 1994), ou encore, en fonction des SVMA [qui jouent un rôle fondamental dans le piégeage des métaux tel que Cd, Cu, Ni, Pb, et Zn] (Di Toro *et al.*, 1992; Ankley *et al.*, 1996; Blasco *et al.*, 2000). Par ailleurs, les concentrations chimiques peuvent être normalisées avec le pourcentage de particules fines afin de définir la fraction peu hydrosoluble (*e.g.*, HAP de poids moléculaire élevé) des substances à l'étude.

2.1.1 Outils d'évaluation

Les concentrations mesurées sont généralement comparées à des valeurs réglementaires spécifiques à des substances particulières. Ces valeurs sont considérées représentatives d'un niveau acceptable de protection du biote associé au sédiment, et toute concentration supérieure à la valeur réglementaire est jugée inacceptable.

Plusieurs approches ont été mises au point depuis pour l'élaboration de critères de qualité des sédiments. Parmi les plus utilisées, on retrouve celles exploitant, i) la contamination naturelle dans les sédiments, ii) les tests de toxicité des sédiments avec dopage, iii) les recommandations pour la qualité des eaux, iv) la toxicité des eaux interstitielles, v) le partage à l'équilibre, vi) les résidus dans les tissus, vii) l'évaluation de la structure de la communauté benthique, viii) la concentration de dépistage, ix) l'analyse triadique des sédiments, x) la concentration seuil produisant des effets apparents, xi) la stratégie d'évaluation des sédiments recommandée par la Commission mixte internationale, et xii) le « National Status and Trends Program ». MacDonald *et al.* (1992) ont décrit brièvement la méthodologie, les principaux avantages, les principales limites et les utilisations actuelles de chacune de ces approches. De nombreuses autres études de synthèse ont aussi été publiées sur ce sujet (Beak Consultants, 1987, 1988; Chapman, 1989; Sediment Criteria Subcommittee, 1989; Adams *et al.*, 1992; Persaud *et al.*, 1992; Lamberson et Swartz, 1992; Long et MacDonald, 1992).

Au Canada, les recommandations canadiennes pour la qualité des sédiments (RCQS) sont des objectifs adoptés à l'échelle nationale, fondés sur la science, dont l'élaboration relève du Groupe de travail pour la qualité des eaux du Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME). Les RCQS proposent des critères de concentrations de substances chimiques individuelles en dessous desquelles on ne prévoit pas d'effets biologiques néfastes (CCME, 1999). Elles sont dérivées des données toxicologiques connues, conformément au protocole élaboré par le CCME (1995). Ce protocole est fondé sur une variante de la démarche adoptée dans le « National Status & Trends Program » (NSTP modifié) et sur la méthode des tests de toxicité avec dopage (TTSD). La démarche modifiée du NSTP utilise les données générées sur sédiments contaminés provenant de différentes localités en Amérique du Nord (Long et Morgan,

1990; Long, 1992; Long et MacDonald, 1992; MacDonald Environmental Sciences Ltd, 1994; CCME, 1995; Long *et al.*, 1995). Des données chimiques et biologiques ont été réunies de façon synoptique (données de co-occurrence) à partir de nombreuses études pour établir une relation, pour chacune des substances répertoriées, entre la concentration et les effets biologiques néfastes observés. La valeur la plus faible, appelée « concentration seuil produisant un effet » (CSE), correspond à la concentration en deçà de laquelle des effets biologiques néfastes sont rarement observés. La valeur la plus élevée, appelée « concentration produisant un effet probable » (CEP), correspond à la concentration au-delà de laquelle des effets biologiques néfastes sont fréquemment observés. En calculant les CSE et les CEP à l'aide d'une formule normalisée, on peut définir trois plages constantes de concentrations de produits chimiques (Figure II-1):

- plage des concentrations les plus faibles produisant un effet, à l'intérieur de laquelle des effets néfastes sont rarement observés (concentrations inférieures à la CSE produisant des effets néfastes dans moins de 25 % des cas);
- plage des effets possibles, à l'intérieur de laquelle des effets néfastes sont occasionnellement observés (soit la plage qui se situe entre la CSE et la CEP); et
- plage des effets probables, à l'intérieur de laquelle des effets biologiques néfastes sont fréquemment observés (concentrations supérieures à la CEP produisant des effets néfastes dans plus de 50 % des cas).

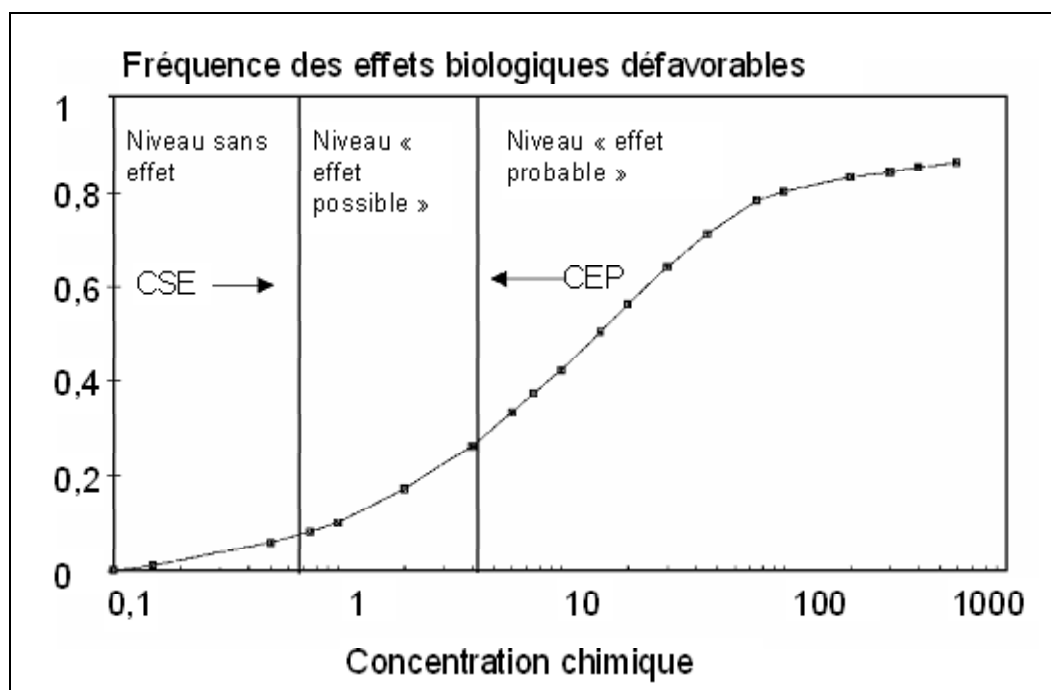


Figure II.1. Exemple conceptuel des niveaux d'effet associé à un contaminant sédimentaire
(Tirée de CCME, 1995)

Ce graphique illustre les différents niveaux d'effets biologiques associés à différentes concentrations d'un produit chimique. La fréquence des effets biologiques défavorables est représentée en fonction de l'accroissement de la concentration (échelle logarithmique) d'un produit chimique fictif, ce qui donne une courbe sigmoïde. La concentration seuil produisant un effet (CSE) et la concentration produisant un effet probable (CEP) sont indiquées dans le graphique. La tranche du graphique qui se trouve entre la CSE et la CEP correspond au niveau avec effet possible.

La CSE correspond à la racine carrée du produit (c.-à-d., la moyenne géométrique) de la concentration du 15^o percentile inférieur de l'ensemble de données « effet » et de la concentration du 50^o percentile de l'ensemble de données « sans effet ». La CEP correspond à la racine carrée du produit (c.-à-d., la moyenne géométrique) de la concentration du 50^o percentile de l'ensemble de données « effet » et de la concentration du 85^o percentile de l'ensemble de données « sans effet ».

La définition de ces plages est fondée sur l'hypothèse selon laquelle la probabilité qu'une exposition à un produit chimique produise des effets toxiques augmente en proportion de la concentration de cette substance dans les sédiments (Long *et al.*, 1995). Les recommandations peuvent aussi être déduites de manière à rendre compte des relations prédictives établies entre une concentration donnée de la substance d'intérêt dans les sédiments et une condition ou un facteur environnemental susceptible d'agir sur la toxicité d'une substance chimique donnée (*e.g.*, certaines caractéristiques des sédiments, comme la teneur en carbone organique total [COT] ou en sulfures volatils en milieu acide [SVMA] ou encore, certaines caractéristiques de la colonne d'eau, comme la dureté). En tenant compte de ces relations, on étendra la portée des recommandations à une vaste gamme de sédiments de toutes les régions du Canada. Jusqu'à présent, plus d'une soixantaine de RCQS visant les écosystèmes d'eau douce et marins ont été élaborées pour des substances diverses, dont métaux, pesticides organiques, PCDD/PCDF, HAP et BPC. Toutes les recommandations canadiennes pour la qualité des sédiments élaborées jusqu'à

présent sont considérées provisoires. Si les données disponibles ne suffisent pas à l'élaboration de recommandations provisoires à l'aide de la démarche modifiée du NSTP ou de la démarche TTSD, on pourra alors évaluer les recommandations établies dans d'autres territoires administratifs et, éventuellement, les adopter à court terme en tant que recommandations *provisoires* pour la qualité des sédiments.

Au Québec, des critères intérimaires pour l'évaluation de la qualité des sédiments du Saint-Laurent ont été adoptés en 1992 (Environnement Canada [EC] et Ministère de l'environnement du Québec [MENV], 1992). Ces critères ont servi dans le cadre de la présente étude. Ils font état de trois seuils définis pour différents contaminants inorganiques (arsenic, cadmium, chrome, cuivre, mercure, nickel, plomb, zinc) et organiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques, biphényles polychlorés, etc.):

- le seuil sans effet (SSE);
- le seuil d'effets mineurs (SEM), qui correspond à la concentration tolérée par 85% des espèces benthiques;
- le seuil d'effets néfastes (SEN), qui correspond à la concentration tolérée par 10% des espèces benthiques.

Le SSE a été fixé à partir des concentrations naturelles connues à l'époque des différents contaminants inorganiques et organiques présents dans l'environnement. Ce seuil a été établi à partir d'études faites surtout en milieu marin et qui utilisaient différentes méthodes d'analyse et d'échantillonnage. Le SEM et le SEN ont été établis à l'aide de la méthode dite « teneur de dépistage » (SLC, ou « screening level concentration »), également utilisée par le ministère de l'Environnement de l'Ontario. Cette méthode est fondée sur la coexistence de contaminants et d'espèces benthiques. Le calcul de la SLC (que ce soit le SEM ou le SEN) s'effectue tel qu'expliqué ci-après (voir Figure II.2). Dans une première étape, pour une substance donnée, on calcule une teneur de dépistage par espèce (ou SSLC, en établissant la distribution des concentrations de la substance à au moins 20 sites où cette espèce est présente; le 90^e percentile de cette distribution de concentrations est alors déterminé). Ensuite, ces SSLC sont regroupées graphiquement par ordre croissant de concentrations et servent à calculer les percentiles correspondants au SEM et SEN.

Les sédiments dont les teneurs en contaminants varient entre le SEM et le SEN doivent faire l'objet d'études approfondies afin de démontrer leur innocuité. Cependant, les sédiments dont les contaminants excèdent les SEN doivent être traités ou confinés, et une restauration du milieu doit alors être envisagée.

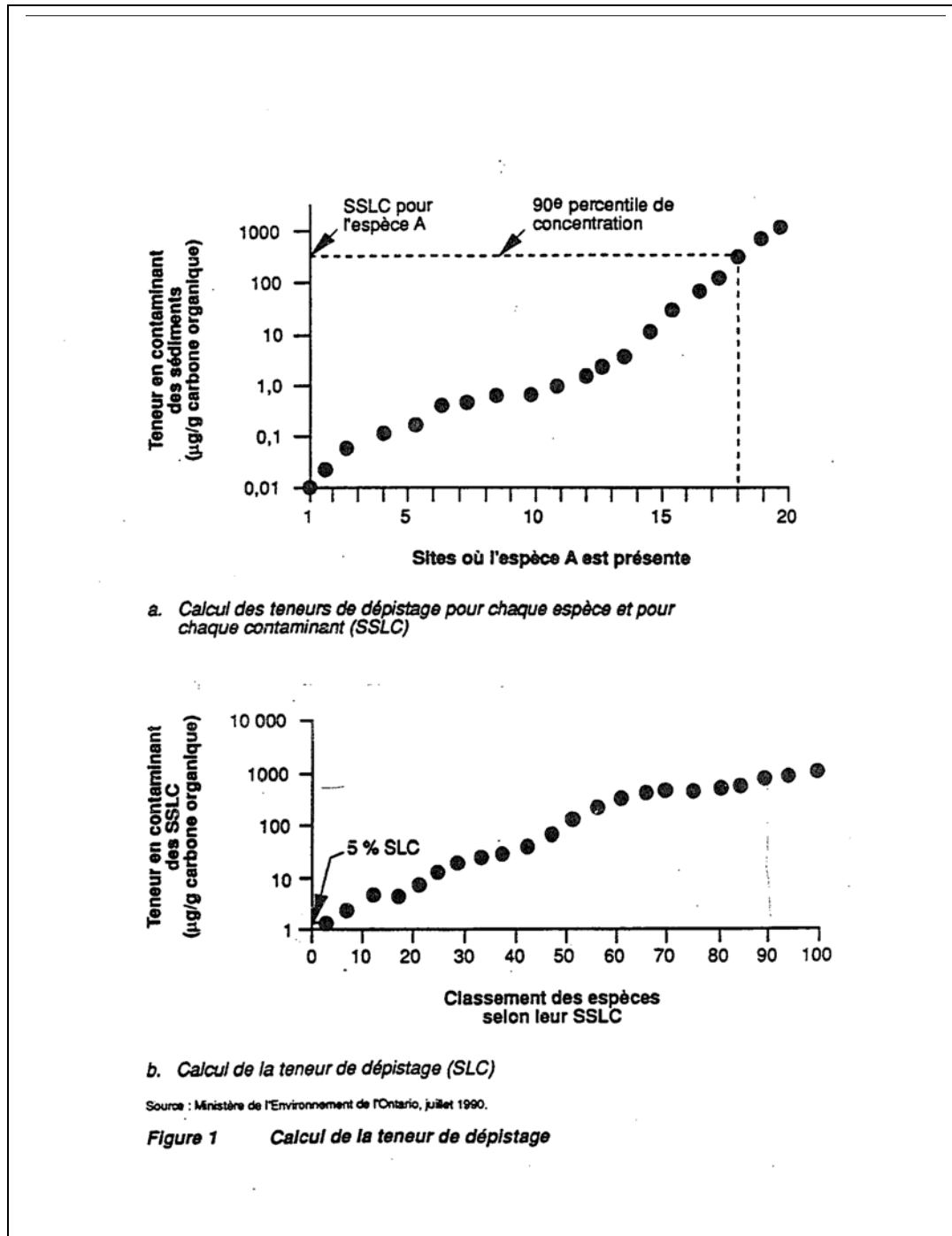


Figure II.2. Calcul de la teneur de dépistage

(Tirée de EC et MENV, 1992)

Plusieurs pays de l'Union Européenne (UE; Conventions internationales d'Oslo, de Londres et de Paris: OSPAR, 1993, 1994a-b) ont tenté de mettre en place une première réglementation concernant les rejets en mer. Dans cette optique, le groupe français GEODE (Groupe d'Étude et d'Observation sur le Dragage et l'Environnement) créé en 1990 par la Direction des Ports et de la Navigation maritime a, pour certains éléments (en particulier des métaux lourds), défini des critères (valeurs de référence) permettant de classer un échantillon de sédiment uniquement à partir des données d'analyses chimiques (Lamy Environnement, 1996). L'obtention de ces valeurs est basée sur le calcul de la médiane de la courbe de distribution de huit métaux et des PCB déterminées à partir d'une gamme d'échantillons de sédiments prélevés dans des ports français entre 1986 et 1990. Différents niveaux de qualité des sédiments sont ainsi définis :

- a. bruit de fond, qui correspond au bruit de fond écologique;
- b. le niveau 1 qui correspond à deux fois la valeur de la médiane– c'est le seuil plafond pour l'autorisation d'immersion sans étude complémentaire;
- c. le niveau 2 qui atteint quatre fois la médiane – au-delà de ce niveau, l'immersion peut être interdite.

Ces critères ont été retenus par la législation française pour déterminer la qualité des sédiments portuaires, estuariens et côtiers (Journal Officiel du 10 août 2000. Arrêté du 14 juin 2000). Récemment, l'IFREMER, en se basant sur un ensemble de résultats chimiques et biologiques, a créé un logiciel (GEODRISK) pour l'analyse prévisionnelle des risques environnementaux liés à l'immersion des boues de dragage des ports maritimes (Quiniou & Alzieu, 1999; Alzieu, 2000; Alzieu *et al.*, 1999, 2002).

Les critères pour la qualité des sédiments ont un champ étendu d'applications potentielles. Ils peuvent être utilisés comme objectifs cibles dans le cadre de programmes de gestion des substances toxiques, comme valeurs de référence ou objectifs dans l'évaluation et l'assainissement de lieux contaminés ou comme point de départ dans l'établissement d'objectifs propres à chaque site d'étude. Ils peuvent également être employés dans l'évaluation de l'efficacité des règlements environnementaux, dans l'évaluation des répercussions potentielles des activités d'aménagement et dans la conception, la mise en oeuvre et l'évaluation de

programmes de surveillance de la qualité de sédiments. Bien qu'ils puissent trouver divers usages, les critères pour la qualité des sédiments sont probablement le plus souvent utilisés comme outil de contrôle dans l'évaluation des risques potentiels d'une exposition aux substances chimiques contenues dans les sédiments d'un emplacement donné et la prise de décisions initiales de gestion (*e.g.*, l'acceptabilité de rejets en eaux libres, l'élaboration de mesures d'assainissement à prendre, l'étude approfondie d'un emplacement et la priorisation des sites).

2.1.2 Avantages et désavantages

L'une des principales forces reliées à l'utilisation des données chimiques pour les sédiments entiers est qu'elle procure une information directe sur la présence et les concentrations de contaminants qui soulèvent certaines inquiétudes quant à leurs effets potentiels sur la santé des organismes benthiques. De plus, des méthodes standardisées ont été établies pour déterminer les concentrations d'une vaste gamme d'analytes dans les échantillons de sédiments. De par leur grande précision, les analyses chimiques permettent de discriminer avec fiabilité les sédiments contaminés de ceux qui ne le sont relativement pas. Par ailleurs, des méthodes, basées sur la normalisation avec les sulfures volatiles et le carbone, ont été développées afin d'obtenir des informations sur le potentiel de biodisponibilité de certaines substances.

L'une des principales limitations des données chimiques est qu'elles ne fournissent aucune information sur les effets causés par les contaminants présents sur les organismes aquatiques exposés. Par surcroît, on peut difficilement prédire la menace des mélanges complexes puisque l'analyse des données se fonde généralement sur les caractéristiques de ses constituants individuels. Certains composés organiques sont aussi parfois difficiles à doser. Leur utilité peut aussi être limitée par la batterie de mesures et les limites de détection de ces mesures qui ont été sélectionnées pour un site à l'étude. Par exemple, on peut omettre de doser les substances les plus importantes, si on ne les connaît pas.

2.2 INDICATEURS BIOLOGIQUES

La structure des communautés d'invertébrés benthiques constitue un indicateur important de la qualité des sédiments. L'évaluation de cette structure benthique est basée sur des comparaisons d'indices ou de métriques tels que la richesse en espèces, la diversité, et l'abondance de groupes clé mesurés aux stations d'étude et aux stations de référence. De nombreuses études ont documenté les changements au niveau de la composition des communautés benthiques résultant de la contamination des sédiments (*e.g.*, Rosenberg et Wiens, 1976; Hilsenhoff, 1982; 1987; Clements *et al.*, 1992).

Les communautés benthiques sont des assemblages d'organismes qui vivent dans ou sur les sédiments. Dans la plupart des évaluations, l'objectif principal est de déterminer l'identité, l'abondance et la distribution des espèces présentes. Parce que la majorité des invertébrés benthiques sont relativement sédentaires et en étroite association avec la matrice sédimentaire, ils ont tendance à être sensibles aux changements survenant au niveau de l'habitat, du sédiment et des conditions de qualité de l'eau (Davis et Lathrop, 1992).

2.2.1 Outils d'évaluation

Au début du siècle, plusieurs indices biotiques ont été développés. Considérons, par exemple, l'indice biotique de Trent (Trent Biotic Index, ou TBI) de Woodiwiss (1964). Cette méthode a été adaptée dans de nombreux pays et parfois modifiée dans sa forme (Metcalf, 1989) pour donner l'Indice Biotique (IB) français de Tuffery et Verneaux (1967), le « Chandler's Biotic Score » (CBS) écossais (Chandler, 1970), le « Average Score Per Taxon » (ASPT) de Armitage *et al.* (1983), l'Indice Biologique Global Normalisé (IBGN) de l'AFNOR (1992), le « Stream Invertebrate Grade Number Average Level » (SIGNAL) Australien (Chessman *et al.*, 1997), le « Semi-Quantitative Macroinvertebrate Community Index » (SQMCI) néo-zélandais de Stark (1998), et l'essai d'indices biotiques de diagnostic de Chessman et McEvoy (1998).

D'autres indices ont été élaborés pour caractériser les abondances individuelles et spécifiques de groupes particuliers d'organismes benthiques. Ces indices tentent de transformer les abondances en une valeur numérique simple, en tenant compte ou non de la distribution des individus à

l'intérieur de chaque espèce (Wilhm, 1967). Ainsi, un environnement relativement peu perturbé serait caractérisé par une diversité élevée, avec un grand nombre d'espèces et une répartition équitable des individus dans les espèces (Zand, 1976; Ghetti et Bonazzi, 1977). Plusieurs de ces indices sont encore utilisés aujourd'hui (Shannon et Weaver, 1949; Simpson, 1949; Margalef, 1958; Menhinick, 1964; Cairns *et al.*, 1968; Camargo, 1992; Docampo et De Bikuna, 1994).

L'Indice des Communautés d'Invertébrés (ICI) de l'US EPA - Ohio (DeShon, 1995) est un critère biologique basé sur la santé des communautés de macro-invertébrés lacustres. L'ICI est en fait une modification de l'indice d'intégrité biotique (IBI) qui a été développé par Karr (1981). L'ICI, qui est composé de 10 paramètres métriques structurels et fonctionnels de communautés, chacun avec 4 catégories de pointage (6, 4, 2, et 0), peut varier entre 0 (communauté médiocre) et 60 (communauté exceptionnelle). Les métriques sont :

- a. nombre total de taxons (au niveau du genre ou de l'espèce)
- b. nombre de taxons d'éphéméroptères (éphémères)
- c. nombre de taxons de trichoptères (phryganes)
- d. nombre de taxons de diptères
- e. pourcentage d'éphéméroptères
- f. pourcentage de trichoptères
- g. pourcentage de larves de chironomides (du genre *Tanytarsini*)
- h. pourcentage d'autres diptères et d'organismes autres que des insectes
- i. pourcentage d'organismes tolérants à divers types de perturbation (e.g., chironomides, tubificides, et gastropodes)
- j. nombre de taxons d'éphéméroptères, de plécoptères, et de trichoptères (ou EPT).

Ce système de pointage permet d'évaluer un échantillon en comparant le score obtenu avec une base de données créée à partir de résultats obtenus pour 232 sites de référence relativement non perturbés. Le pointage est de 6 pour un résultat comparable à la valeur de référence pour une communauté exceptionnelle, de 4 pour des valeurs typiques de communautés en bonne condition, et de 2 ou 0 en cas de déviation légère ou forte de valeurs correspondant à un site en bonne condition. La somme des scores obtenus pour l'ensemble des métriques résulte en l'indice ICI.

L'ICI a été adapté à la faune du fleuve Saint-Laurent (d'où sa nouvelle appellation ICI-SL) après calibration des métriques à partir de valeurs qui caractérisent la structure des communautés de

macro-invertébrés de cet écosystème canadien (Willsie, 1993a, b). La base de données qui a servi à établir les valeurs de référence pour le fleuve Saint-Laurent renfermait 987 échantillons prélevés en 1982-1983 de 117 stations dans la région de Montréal (Québec) (Ferraris, 1984). L'étude de Pinel-Alloul *et al.* (1996) qui visait à évaluer l'aptitude de l'ICI à discriminer les sites non perturbés des sites dégradés, a permis d'identifier quatre métriques jugés suffisants pour établir cette discrimination pour l'écosystème du Saint-Laurent. L'ICI-SL, qui se compose des quatre métriques suivants, peut varier entre 0 et 24 :

- M1) nombre total de taxons (au niveau du genre ou de l'espèce)
- M4) nombre de taxons de diptères
- M6) pourcentage de trichoptères
- M9) pourcentage d'organismes tolérants à divers types de perturbation

L'ICI-SL a été utilisé dans le cadre des travaux décrits dans cet ouvrage. Son application est décrite en détail au Chapitre VI.

La méthode BEAST (Benthic Assessment of Sediment), exposée en détail dans Reynoldson et Day (1998) et Reynoldson *et al.* (1995), a été élaborée pour établir des recommandations pour les sédiments des Grands Lacs. Cette méthode se fonde sur la structure des communautés d'invertébrés et des tests de toxicité sur le terrain et en laboratoire. Les caractéristiques des groupes communautaires observés et la plage des réponses aux bioessais par rapport à la variabilité normale des sédiments constituent le principe des méthodes basées sur les communautés et des bioessais.

L'emploi de « conditions de référence » est l'élément fondamental de la conception du BEAST, basées sur les meilleures conditions connues de la qualité des sédiments dans les Grands Lacs. Une série de critères de sélection a été recueillie pour 252 sites de référence qui ont été choisis pour formuler les conditions de référence pour les Grands Lacs. Les sites de référence ont ensuite été statistiquement regroupés selon une analyse typologique basée sur les attributs structurels des communautés benthiques. Des groupes ont été dégagés pour rendre compte d'assemblages précis des communautés benthiques, représentant les « conditions de référence » pour les Grands Lacs (Reynoldson et Day, 1998). Ces conditions de référence permettent de prévoir le type

d'assemblage benthique que l'on pourrait s'attendre à trouver aux emplacements non perturbés dans les Grands Lacs.

Borja et al. (2000) ont proposé l'Indice Biotique Marin (BI) pour l'évaluation de la qualité du benthos des fonds marins meubles des milieux estuariens et côtiers européens. Cet indice repose sur un premier indice utilisé par Glémarec et Hily (1981), puis par Hily (1984), selon lequel la faune macroscopique des fonds meubles peut être organisée en cinq groupes en fonction de la sensibilité à un degré croissant de stress (e.g. un enrichissement croissant en matières organiques). Ces groupes ont été synthétisés par Grall et Grémarec (1997), comme suit :

- Groupe I : Espèces très sensibles à l'enrichissement organique et présentes en conditions non polluées (état initial).
- Groupe II : Espèces indifférentes à l'enrichissement, toujours présentes en faible densité avec variations non significatives dans le temps (de l'état initial à déséquilibre léger).
- Groupe III : Espèces tolérant un enrichissement organique en excès. Ces espèces pourraient se présenter dans des conditions normales, mais elles prolifèrent en milieu d'enrichissement organique (situations légèrement déséquilibrées).
- Groupe IV : Espèces opportunistes de second ordre (situations avec déséquilibre de léger à marqué). Principalement polychètes de petite taille.
- Groupe V : Espèces opportunistes de premier ordre (situations avec déséquilibre prononcé). Il s'agit de dépositivores qui prolifèrent dans les sédiments réduits.

La distribution de ces groupes écologiques en fonction de leur sensibilité aux pressions de pollution fournit un indice biotique avec huit niveaux, de 0 à 7 (Hily, 1984; Majeed, 1987). L'indice a été validé et a démontré ses capacités à détecter les différences entre des sites témoins et des sites contaminés (Borja et al., 2000).

2.2.2 Avantages et désavantages

Bien que largement utilisées à travers le monde, ces méthodes présentent certains inconvénients ou limites qui restreignent leur usage. La critique principale des indices biotiques est qu'ils sont considérés comme étant spécifiques de certains types de pollutions particulières, puisque les organismes indicateurs ne peuvent être sensibles à tous les types de pollution (Washington, 1984). De plus, ces indices sont toujours spécifiques à la région où ils ont été créés, puisque la

taxonomie, c'est-à-dire les organismes indicateurs, varie selon les régions. Toutefois, l'évolution des indices a conduit à ne conserver que la famille comme niveau de détermination, ce qui permet non seulement de réduire les inégalités de richesse taxonomique aux différents niveaux typologiques (Verneaux, 1984), mais surtout de surmonter l'utilisation des indices à certains types de cours d'eau et à certains endroits dans un pays donné (Armitage *et al.*, 1983).

Les indices de diversité ont également leurs critiques. Les valeurs données par ces indices peuvent fluctuer dans le temps, atteignant des niveaux très éloignés de la moyenne (Ghetti et Bonazzi, 1977). La simplification conceptuelle qui supprime toute connaissance de l'individu est également reprochée puisqu'elle implique une perte considérable d'information (Verneaux, 1984; Metcalfe, 1989). De plus, il est erroné de considérer une communauté non perturbée comme possédant une répartition équitable des individus de chaque espèce, car la notion de pyramide trophique montre que le nombre d'individus dans chaque niveau peut varier considérablement (Frontier et Pichod-Viale, 1991). Washington (1984) conclut qu'un indice de diversité est un outil important pour évaluer la pollution, mais il ne peut répondre à tout et ne peut jamais remplacer une étude approfondie qui serait fondée sur l'utilisation d'une variété d'outils d'évaluation.

2.3 INDICATEURS TOXICOLOGIQUES

Les tests de toxicité (*syn.* bioessais, essais toxicologiques) sont considérés comme étant les meilleurs outils présentement disponibles pour intégrer les effets de multiples contaminants (US EPA, 1991a). Ces essais s'intéressent aux réponses d'espèces uniques lorsqu'elles sont exposées à des sédiments, habituellement en vertu de conditions normalisées. Ces tests servent à établir un rapport entre la contamination d'un site et les effets biologiques connexes. Des organismes et des paramètres d'effet dont la sensibilité est établie sont habituellement choisis et une série ou batterie de tests peut être utilisée pour évaluer le potentiel toxique. Les critères de sélection de ces tests comprennent (US EPA, 2002; Santiago *et al.*, 2002) :

- l'objectif de l'étude
- le choix de paramètres d'effets représentatifs
- le type de toxicité (aiguë ou chronique)
- le choix d'organismes *in situ* représentatifs

- la simplicité de mise en œuvre
- la reproductibilité
- la sensibilité relative envers les agents polluants
- le pouvoir de discrimination
- la rapidité
- la normalisation des protocoles opératoires
- le coût

Les essais de toxicité employant des organismes aquatiques sont utilisés depuis plusieurs décennies comme outils d'analyse des effets des contaminants chimiques et des mélanges complexes qui sont rejetés dans les cours d'eau. C'est dans les années 1970 qu'on a reconnu que les sédiments agissaient comme compartiment de stockage des contaminants et que le développement des essais de toxicité sédimentaires a véritablement pris son essor (Gannon et Beeton, 1971; Swartz *et al.*, 1979).

Historiquement, l'approche courante pour évaluer la qualité ou le potentiel toxique des sédiments consistait à exposer des organismes macrobenthiques directement aux sédiments entiers pour une période de temps bien définie et d'en mesurer la survie. Cette approche a été couramment utilisée par le *U.S. Environmental Protection Agency* (US EPA) et le *U.S. Army Corps of Engineers* (US ACE)¹ pour évaluer si les sédiments de dragage se prêtaient à diverses options de dépôt (US EPA et US ACE, 1977). Cette approche continue d'être appliquée sous une forme actualisée (US EPA et US ACE, 1991). Ces bioessais sur sédiments entiers utilisent principalement des amphipodes, des polychètes, des copépodes et des bivalves (Swartz *et al.*, 1979, 1982, 1985, 1988, 1989; Chapman et Morgan, 1983; Carr *et al.*, 1989; Becker *et al.*, 1990, Long *et al.*, 1990, ASTM, 1992, Eertman *et al.*, 1993; Burgess et Morrison, 1994; Long et Wilson, 1997, Mathiessen *et al.*, 1998). Ils sont toutefois relativement longs à mettre en œuvre (généralement de 10 à 28 jours), utilisent souvent la survie comme paramètre d'effet, et sont généralement peu sensibles. De plus, ces essais sont sujets à des interférences causées par les caractéristiques physico-chimiques des sédiments, tel que la granulométrie et la teneur en matière organique (DeWitt *et al.*, 1988; Lacey *et al.*, 1999; Cripe *et al.*, 2000).

¹ Aussi connue sous l'appellation « Livre Vert » (*angl.*: « Green Book »).

Le premier essai de toxicité visant l'évaluation de l'eau interstitielle des sédiments a été rapporté en 1988 (Carr, 1988; Carr *et al.*, 1989). Il s'agissait d'un test du cycle de vie complet du polychète *Dinophilus gyrotilatus* (Figure II.3).

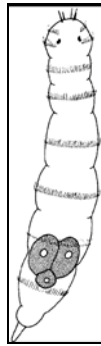


Figure II.3. *Dinophilus gyrotilatus* (Dinophilidae) adulte (tiré de Westheide, 1984)

Des études subséquentes ont démontré l'adéquation de l'eau interstitielle pour la réalisation d'essais avec d'autres organismes aquatiques tels que des gamètes et embryons d'oursins de mer (Carr et Chapman, 1992), des amphipodes benthiques (Winger et Lasier, 1991), des embryons de poissons (Carr et Chapman, 1992) de naupliis de copépodes (Carr *et al.*, 1996), de zoospores d'algues (Hooten et Carr, 1998) et d'autres organismes se prêtant à des essais miniaturisés (Wells *et al.*, 1998). Depuis, les essais sur eaux interstitielles emploient une vaste gamme d'organismes et mesurent de nombreux paramètres d'effets (incluant la survie, la reproduction, la fertilisation, la croissance, et la génotoxicité). Ils ont en général l'avantage d'être plus rapides, plus sensibles et moins coûteux que les essais entrepris sur sédiments entiers employant des organismes macrobenthiques.

Environnement Canada dispose de plusieurs méthodes uniformisées pour l'analyse de la toxicité des sédiments, dont: l'essai de mortalité des amphipodes d'une durée de 10 jours (EC, 1992c), pour les habitats marins et estuariens; l'essai de survie et de croissance du polychète *Polydora cornuta* réalisé sur une période de 14 jours (EC, 2001); l'essai de survie et de croissance de l'amphipode dulçaquicole *Hyaella azteca* conduit sur une période de 14 jours (EC, 1997c), qui peut également servir pour les milieux estuariens; et l'essai de survie et de croissance des larves

de chironomes d'une durée de 10 jours (EC, 1997d). Tous ces essais sont semblables à ceux utilisés dans d'autres juridictions (e.g., aux E.U.). Des essais plus sensibles, permettant d'évaluer des effets chroniques sublétaux (tel que la reproduction) sont également disponibles. L'essai de 28 jours réalisé avec des amphipodes marins (Emery *et al.*, 1997) ou dulçaquicoles (Ingersoll *et al.*, 1998) et le test de reproduction d'un chironome dulçaquicole d'une durée de 65 jours (Sibley *et al.*, 1996; Benoit *et al.*, 1997) en sont des exemples.

2.3.1 Micro-bioessais sur espèces uniques

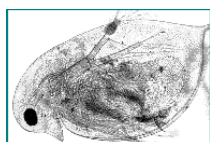
La gamme de bioessais disponibles est vaste et diversifiée, et comporte principalement des essais employant des micro-organismes (d'où l'appellation « micro-bioessais »), tels que des bactéries, des protozoaires, des micro-algues (phytoplancton), et des micro-invertébrés. Les ouvrages de Wells *et al.* (1998) et Persoone *et al.* (2000) en fournissent une revue exhaustive. Les micro-organismes sont particulièrement appropriés pour les essais de toxicité puisqu'ils possèdent des voies biochimiques comparables à celles d'organismes supérieurs. Par ailleurs, de par leur temps de génération relativement court, comparativement à des organismes supérieurs, les micro-organismes employés dans des essais chroniques sont plus faciles à utiliser (Bitton, 1983). De plus, avec les restrictions grandissantes sur l'utilisation de poissons et autres organismes supérieurs pour des tests de toxicité létale, les micro-bioessais seront certainement appelés à jouer un rôle de plus en plus important dans les évaluations de risques.

La plupart des micro-bioessais mesurent des effets aigus (*i.e.*, à court terme), tels que la survie sur une période de 96h ou encore des effets sub-létaux tels que la bioluminescence ou l'inhibition d'une activité enzymatique spécifique. Le test de luminescence Microtox^{MC} employant la bactérie *Vibrio fischeri* (anc. *Photobacterium phosphoreum*) (EC, 1992a) est probablement le plus connu des micro-bioessais; ses perfectionnements et adaptations sont décrits par Qureshi *et al.* (1998) et Johnson (1998). L'essai Microtox^{MC} était originalement utilisé pour l'évaluation de sédiments marins (Schiewe *et al.*, 1985). Des bactéries sont également employées pour évaluer l'impact des contaminants ou matrices contaminés sur l'activité biochimique (voir § 2.3.2) ou encore pour la détection d'effets génotoxiques ou mutagéniques (voir § 2.3.3). Les essais de toxicité aiguë constituent d'excellents outils de dépistage pour comparer la sensibilité de diverses espèces à un

même polluant chimique ou encore pour comparer la toxicité de plusieurs substances chez un même organisme. Par contre, ils ne fournissent aucune information sur l'impact des agents polluants sur les communautés aquatiques dans leur environnement naturel. Selon maints auteurs, les essais aigus d'une durée de 96 heures ne sont pas suffisamment longs pour évaluer, par exemple, les effets des métaux lourds sur les organismes aquatiques (EISLER, 1971; Price et Uglow, 1979; Pesh et Stewart, 1980; Amiard-Triquet, 1983).

Les micro-bioessais chroniques (*i.e.*, à plus long terme) réalisés sur plusieurs générations cellulaires permettent de déterminer le potentiel toxique d'échantillons ont des implications écologiques plus importantes que les essais aigus (Amiard-Triquet, 1983). L'essai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (anc. *Selenastrum capricornutum*), pour lequel il existe un protocole sur microplaque (EC, 1992d ; Blaise *et al.*, 1998), en est un excellent exemple. Dans cet essai, l'algue est exposée à une matrice contaminée dans des microplaques à 96 puits pour une période de 96 h, après laquelle la densité cellulaire est calculée à l'aide d'un hémacymètre ou compteur de particules électronique. Le contenu en ATP (Blaise *et al.*, 1986) ou la fluorescence de la chlorophylle (Caux *et al.*, 1992) ont également été proposés comme paramètres d'effet. Une alternative au test avec *P. subcapitata* est l'Algaltokit F^{MC} de Persoone (1998a). L'une des principales caractéristiques de cet essai est qu'il ne nécessite pas d'étape de cultures algales puisque les algues sont fournies sous forme de billes algales qui peuvent être conservées pendant plusieurs mois. Blaise *et al.* (1998) ont publié une revue exhaustive sur les développements et applications de bioessais employant des micro-algues.

Selon Maltby et Calow (1989), les invertébrés sont les organismes aquatiques les plus communément utilisés dans les bioessais. Les essais aigus et chroniques avec micro-invertébrés tels que *Daphnia magna* et *Ceriodaphnia dubia* sont reconnus par des organisations internationales telles que l'OCDE, l'ISO, la US EPA et EC.



D. magna

C. dubia

Figure II.4. Les cladocères utilisés dans les micro-bioessais

Une revue exhaustive des bioessais employant des cladocères est fournie par Persoone et Janssen (1994). Le Thamnotoxkit, le test IQ avec *Daphnia magna* (Persoone, 1998b) et le test Ceriofast^{MD} en sont trois exemples. Le Thamnotoxkit F mesure la létalité après 24 h d'exposition sur une plaque à puits multiples sur des jeunes larves du micro-crustacé *Thamnocephalus platyurus*. Le test IQ exploite de jeunes *D. magna*. On les répartit entre les concentrations d'essai et on leur fournit des quantités fixes du substrat méthylumbelliféryl- β -D-galactoside (MUF-galactoside). Les daphnies viables ingèrent le substrat et l'hydrolysent par voie enzymatique, produisant de la 4-méthylumbelliférone, fluorescente (le phénomène est décrit dans Lee et Tay, 1998). L'absence d'hydrolyse révèle la toxicité. Le test Ceriofast^{MD} mesure l'inhibition d'ingestion de nourriture par *Ceriodaphnia dubia* après une exposition d'une heure (Jung et Bitton, 1997).

2.3.2 Biomarqueurs : Indices biochimiques

La notion de biomarqueur a été définie par plusieurs auteurs (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway et Depledge, 2001; van der Oost *et al.*, 2003) comme étant un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, de l'organisme, de la population ou de l'écosystème qui peut être reliée à une exposition ou à des effets toxiques de polluants chimiques environnementaux. Les effets à des niveaux hiérarchiques élevés (population et écosystème) sont toujours précédés de changements précoces dans les processus biologiques, permettant le développement de biomarqueurs d'alerte précoce d'effets toxiques.

Certains biomarqueurs ont été utilisés pour évaluer l'exposition d'organismes aux contaminants présents dans les sédiments. Les biomarqueurs rendent compte de la réaction d'un organisme à la présence de certains xénobiotiques. Ils peuvent parfois permettre l'identification de la (ou des) cause(s) des effets observés et offrent l'avantage de répondre rapidement à des changements d'exposition (Jimenez et Stegemam, 1990; McCarthy & Shugart, 1990). Ils sont des indicateurs d'exposition plus que d'effet car il est difficile de relier la réponse observée du ou des biomarqueur(s) utilisé(s) à des effets spécifiques sur l'état de santé de l'organisme.

Les réponses biochimiques aux contaminants ont reçu une attention particulière comme biomarqueurs de la qualité environnementale, en raison de leur courte durée, de leur sensibilité et de leur grande utilité dans l'évaluation des modes d'action des contaminants. Il existe une variété de tests biochimiques qui font appel à des enzymes, telle que l'estérase (Gilbert *et al.*, 1992; Blaise *et al.*, 1998; Franklin *et al.*, 2000). L'inhibition de l'activité estérasique est déterminée chez des micro-algues après une période d'exposition à une matrice contaminée et en présence de diacétate de fluoresceine (DAF). Le DAF intracellulaire non fluorescent (*i.e.*, non polaire) est clivé par l'enzyme en fluoresceine (polaire) qui émet une fluorescence à 488 nm. Le système ATP-TOX (Xu et Dutka, 1987 ; Xu, 1998) et le test de dépistage de toxiques par l'ATP algal (Blaise *et al.*, 1984) sont des exemples de biomarqueurs qui permettent de mesurer la production/inhibition d'ATP à partir de cultures bactériennes (dans le cas de l'ATP-TOX) ou d'algues vertes (dans le cas de l'ATP algal). L'ATP est mesuré en fonction de la lumière produite par le système luciférine-luciférase vis-à-vis des témoins, ce qui reflète une densité d'organismes et, par conséquent, la vitesse de multiplication d'une culture cellulaire depuis le début d'une exposition.

Un autre exemple de biomarqueur enzymatique est le Toxi-Chromotest^{MC} par lequel on mesure la production de l'enzyme inducible β -galactosidase par la bactérie *Escherichia coli*. Des cultures bactériennes sont exposées à un inducteur connu de la β -galactosidase et à un substrat de l'enzyme, puis à des dilutions d'un échantillon aqueux dans les cupules d'une microplaque. Les matières toxiques perturbent la physiologie cellulaire, réduisant ainsi la synthèse de β -galactosidase, ce que révèle l'absence de variation de couleur d'un composé chromogène lié au substrat.

Pour une contamination de nature métallique, les métallothionéines ont le plus fort potentiel pour être utilisées comme biomarqueur (Viarengo et al., 1985, 1999; Dallinger, 1993; Geffard, 2001). Ce sont des protéines ubiquistes, de faible poids moléculaire, thermorésistantes et riches en groupement cystéinique, ce qui leur confère une grande affinité avec les métaux. Un excès en métaux (essentiels ou non) entraîne une induction de métallothionéines qui jouent un rôle clé

dans la détoxification. Les métallothionéines ont été utilisées par certains auteurs comme biomarqueur d'une exposition métallique (pour une revue, consulter Amiard et al., 2006).

2.3.3 Biomarqueurs : Réponses génotoxiques

Les biomarqueurs jouent également un rôle important dans la détection d'expositions à des substances génotoxiques, telles que des HAP, amines aromatiques et carbazoles. Plusieurs outils de mesure sont disponibles pour l'évaluation de la génotoxicité des sédiments. Brièvement, ils incluent les mesures directes d'altération structurelle de l'ADN, de perturbation dans le processus de réparation de l'ADN, et des mutations génomiques.

Le plus utilisé des essais de dépistage génotoxique est le test d'Ames (Ames *et al.*, 1975; Maron et Ames, 1983). Ce test utilise des souches non virulentes de la bactérie *Salmonella typhimurium*, ayant perdu (par mutation) la capacité de synthétiser l'histidine, et ne pouvant donc être cultivée que sur un milieu suppléant cet acide aminé. La substance d'essai peut amener, par mutation, certaines cellules bactériennes à retourner à la forme capable de synthétiser l'histidine, et donc de croître en milieu dépourvu de cet acide aminé. Le test d'Ames est simple et assez rapide (L'Haridon *et al.*, 1993). Le test peut être rendu plus pertinent à l'égard de la cancérogénicité pour les mammifères si on ajoute un homogénat de foie de rat au système expérimental. Plusieurs composés potentiellement mutagènes, les HAP notamment, sont activés par certaines enzymes de biotransformation.

Le test Mutatox^{MC} a recours à une souche mutante non luminescente de la bactérie *Vibrio fischeri*. L'exposition aux génotoxiques mène à des mutations, et les bactéries exposées recouvrent la capacité de produire de la lumière. La lumière produite est mesurée à l'aide d'un photomètre qui fournit indirectement une estimation des mutations reverses et de la génotoxicité. Le système de mesure est semblable à celui du Microtox^{MC} (Microbics, 1993).

Le SOS-Chromotest^{MC} emploie une souche génétiquement modifiée d'*Escherichia coli* dont l'enzyme β -galactosidase est liée aux gènes produisant les protéines SOS, alors que cette enzyme n'est normalement pas liée aux mécanismes réparateurs SOS. Par conséquent, si une bactérie subit des lésions génétiques qui déclenchent le mécanisme de réparation, la β -galactosidase

dosable par colorimétrie sera aussi produite (Quillardet *et al.*, 1982; 1985). Le métabolisme cellulaire (viabilité), déterminé en parallèle, est mesuré par l'activité de la phosphatase alcaline, dosée aussi par colorimétrie. On peut alors estimer l'impact d'un produit sur la viabilité cellulaire (toxicité), de façon à la distinguer des effets génotoxiques. Chaque test produit donc deux mesures distinctes, soit celle du potentiel génotoxique de l'échantillon (production de β -galactosidase) et celle de sa toxicité (activité de la phosphatase alcaline).

Les essais SOS-Chromotest^{MC} et Mutatox^{MC} conviennent bien au dépistage de la génotoxicité dans le cadre d'études environnementales. Simples et rapides, ils ne requièrent que quelques heures à réaliser, de petits volumes d'échantillons et ils peuvent se quantifier facilement. On peut traiter plusieurs échantillons par le SOS-Chromotest^{MC}, grâce aux microplaques à 96 puits. L'ajout d'un homogénat de foie de rat permet aux deux tests de détecter les mutagènes indirects (*i.e.*, ceux nécessitant une activation métabolique). Legault *et al.* (1994) accordent aux deux une cote favorable pour les études environnementales, en comparaison du test d'Ames^{MC}, plus long et coûteux à entreprendre. Pour le SOS Chromotest, certains utilisateurs ont cependant trouvé difficile d'évaluer avec précision les couleurs produites par le mélange échantillon-bactéries pendant l'exposition, et l'emploi d'un lecteur colorimétrique de microplaques s'avère alors nécessaire pour établir des corrections. Le SOS-Chromotest^{MC} a servi à l'étude de substances génotoxiques présentes dans l'eau et les sédiments du Saint-Laurent (Langevin *et al.*, 1992). Son utilisation a été minutieusement analysée par White et Côté (1998), qui concluent que l'emploi d'une version semi-automatisée de l'essai permet l'examen efficace d'échantillons complexes.

2.3.4 Macro-bioessais sur espèces uniques

Les essais de toxicité avec les arthropodes *Chironomus riparius* ou *C. tentans*, *Hyallela azteca* et le cnidaire *Hydra attenuata*, sont certainement les plus connus de cette catégorie. Ces organismes sont des composantes majeures de la chaîne alimentaire aquatique. Ils sont ubiquistes dans tous les types de milieux aquatiques et de manière abondante dans les cours d'eau (De March, 1981; Townsend *et al.*, 1981; France, 1993; EC, 1997a).



Figure II.5. Certains organismes utilisés dans les macro-bioessais

Les organismes *C. tentans* et *C. riparius* sont des arthropodes benthiques communs dans les zones mi-continentales de l'Amérique du Nord et de l'Europe (Autriche, Belgique, France, Grande Bretagne, Italie, Scandinavie, Allemagne). Les ruisseaux de petite taille ou de taille moyenne peuvent abriter jusqu'à 50,000 individus/m². Les lacs et les étangs eutrophes contiennent au minimum 50 espèces différentes de chironomides (Coffman, 1978). Contrairement à celles-ci, *H. azteca* n'est pas présente sur le continent européen. Cette espèce a néanmoins été retenue puisqu'il n'existe à ce jour aucun bioessai facilement applicable avec des amphipodes d'eau douce européens. L'amphipode *Gammarus* est parfois utilisé pour évaluer la qualité des sédiments mais peu de données sont disponibles sur ce genre, et il est principalement étudié *in situ* (Borgmann *et al.*, 1989). La manipulation et l'élevage de *H. azteca* sont précisément décrits dans plusieurs protocoles Nord Américains normalisés (US EPA, 1994a; ASTM, 1995; EC, 1997c) et cet organisme est très abondant dans les lits des cours d'eau, les lacs et les étangs colonisés par des plantes aquatiques (France, 1993). Tout d'abord utilisée pour des essais de tératogénicité (Johnson *et al.*, 1982; Fu *et al.*, 1991), l'hydre *H. attenuata* est maintenant couramment utilisée pour l'évaluation du potentiel toxique de sédiments où l'on y détermine des effets (sub)létaux aigus (Côté *et al.*, 1998a,b).

Les chironomides et amphipodes sont utilisés depuis de nombreuses années pour évaluer la qualité des sédiments (Wentzel *et al.*, 1977; Nebecker *et al.*, 1984; Nebeker *et al.*, 1986; Giesy *et al.*, 1988a; Borgmann et Munawar, 1989). Des protocoles normalisés utilisant ces organismes ont été proposés (US EPA, 1994a; EC, 1997c; EC, 1997d).

Certaines espèces d'oligochètes et de bivalves sont également utilisées dans les essais avec sédiments, puisque ces animaux sont communément retrouvés dans ce compartiment. Les tubifex prolifèrent particulièrement dans les zones polluées. Ces vers rougeâtres construisent des tubes leur servant d'abris. Ils jouent un rôle important dans le cycle des métaux et des contaminants organiques. Les moules ont été utilisées, dans une moindre mesure, pour les évaluations environnementales et plus récemment dans les études de toxicité des sédiments (Wade et al, 1989).

2.3.5 Phases sédimentaires

Diverses phases sont utilisées dans les essais de toxicité des sédiments. Chacune présente des avantages et des lacunes qui limitent leur applicabilité à toutes les situations et études. L'utilisation conjointe de ces phases permet de palier à certains inconvénients lorsque chaque phase est étudiée isolément. Le sédiment entier (SE) présente les trois composantes (ou phases) suivantes :

- Eau interstitielle (EI) : correspond à l'eau qui occupe l'espace entre les particules sédimentaires; elle représente une fraction importante du sédiment et constitue généralement plus de 50% de son volume (Förstner, 1987).
- Phase solide-humide (SH) : correspond au sédiment duquel l'eau interstitielle a été retirée par centrifugation ou autre méthode physique. Cette phase comprend les particules inorganiques (principalement des argiles, carbonates, silicates) et organiques.
- Phase organique (EO) : n'occupe qu'un faible volume du sédiment. Selon sa taille, la matière organique est classée en carbone organique dissous (COD < 1 kDa), colloïdal (1 kDa < COC < 0,22 µm) et particulaire (COP > 0,22 µm).

Les essais sur sédiments entiers ont été développés pour évaluer les effets des sédiments *in situ* (US EPA, 1994a, 1994b; ASTM, 1995; EC, 1997c,d). Les essais de toxicité sur l'eau interstitielle ont été développés pour évaluer le potentiel d'effets *in situ* de sédiments contaminés sur les organismes aquatiques (Ankley *et al.*, 1991a,b). Pour plusieurs invertébrés benthiques, la toxicité et la bioaccumulation des contaminants associés aux sédiments tels que les métaux et contaminants organiques non-ioniques ont été corrélés aux concentrations de ces substances chimiques dans l'eau interstitielle (Di Toro *et al.*, 1991). Les essais de toxicité sur extraits

organiques ont été développés pour évaluer les effets associés aux concentrations maximales des contaminants organiques associés aux sédiments (Chapman et Fink, 1984). Les essais sur éluutriats et la phase solide-humide ont pour but de mesurer le potentiel toxique associé au rejet des contaminants du sédiment vers la colonne d'eau pendant les activités de dragage ou de dépôt du matériel sédimentaire ou encore lors d'évènements qui provoquent la remise en suspension des sédiments (Shuba *et al.*, 1978; ASTM, 1995).

L'étude de chacune de ces phases comporte des avantages mais peut également amener des incertitudes qu'il importe de connaître avant leur sélection (voir Chapitre III pour plus de détails). Ingersoll *et al.* (1997b) ont effectué une étude comparative de ces phases, en tenant compte (entre autres) de leur pertinence écologique, de leur sensibilité, et des possibilités d'interférence causées par des facteurs autres que les contaminants (par exemple, la granulométrie des sédiments, la teneur en carbone organique, la présence d'organismes indigènes, l'utilisation de solvants lors de l'extraction de composantes sédimentaires, etc.). Un sommaire des conclusions de cette étude, en ce qui concerne ces trois sources d'incertitude, figure ci-après. Pour plus de détails, le lecteur peut également se référer au Chapitre III.

Pertinence écologique. Les essais sur sédiments entiers employant des invertébrés benthiques qui résident dans les sédiments à l'étude peuvent fournir l'information la plus réaliste sur les effets toxicologiques sédimentaires. En revanche, parce qu'ils modifient la biodisponibilité des contaminants présents et ne représentent pas une exposition réaliste *in situ*, les extraits organiques de sédiments sont considérés comme étant ceux qui sont les moins pertinents du point de vue écologique. La préparation d'éluutriats et de solides en suspension peut également modifier la biodisponibilité des contaminants associés aux sédiments, bien que Burton *et al.* (1996) ont démontré que des organismes pélagiques peuvent être de bons indicateurs de la toxicité des sédiments entiers. L'étude de l'eau interstitielle semble être un substitut raisonnable à celle de sédiments entiers (Giesy et Hoke, 1989; Ankley *et al.*, 1991a,b; Carr et Chapman, 1995).

Sensibilité. La sensibilité d'une phase sédimentaire reflète son potentiel à minimiser les incertitudes associées aux faux positifs (*i.e.*, des échantillons non toxiques incorrectement

reconnus toxiques) et aux faux négatifs (*i.e.*, des échantillons toxiques incorrectement reconnus non toxiques). Les essais sur sédiments entiers réalisés avec des organismes benthiques démontrent un niveau approprié de sensibilité, selon Ingersoll *et al.* (1997b), sans pour autant dire que tous les essais conduits sur sédiments entiers soient les plus sensibles. Il semble y avoir un degré élevé de certitude que les essais sur sédiments entiers fournissent une mesure prédictive et exacte des effets toxicologiques des contaminants associés aux sédiments². Les essais employant l'eau interstitielle viennent, avec ceux entrepris sur sédiments entiers employant des organismes pélagiques, en deuxième place en ce qui concerne la certitude associée à leur sensibilité. Le plus faible niveau de certitude a été attribué à la sensibilité des extraits organiques, des éluviats et des solides en suspension, puisque dans ces cas, les échantillons sont tellement dénaturés que la toxicité mesurée peut s'avérer être un artéfact de la méthode de préparation (*e.g.*, la toxicité pourrait résulter de la présence de solvants dans les échantillons).

Interférences. Les interférences sont associées aux facteurs biotiques et abiotiques qui peuvent influencer les résultats de toxicité au-delà des effets directs causés par les contaminants. Toutes les phases associées aux sédiments comportent un niveau « modéré à élevé » d'incertitude associée aux interférences. Des facteurs tels que la granulométrie, le contenu en carbone organique (CO), la salinité, et la présence (ou l'absence) de substances nutritives peuvent potentiellement affecter les résultats des essais de toxicité entrepris sur des sédiments entiers avec des organismes benthiques ou pélagiques (DeWitt *et al.*, 1988; Ankley *et al.*, 1994; Suedel et Rodgers, 1994). A l'instar de la sensibilité, l'incertitude associée aux interférences dans les essais avec extraits organiques, éluviats et solides en suspension est la plus élevée en raison des artéfacts potentiels introduits lors de la préparation de ces phases d'exposition. Dans le cas des essais employant l'eau interstitielle, le changement d'une unité ou plus de pH durant l'essai pourrait affecter les résultats de façon significative. Un changement de pH pourrait altérer la toxicité associée aux métaux, à l'azote et aux sulfures d'hydrogène (Ankley et Thomas, 1992; Ankley et Schubauer-Berigan, 1991). De même, l'oxygénation de sédiments anoxiques joue un rôle important dans la biodisponibilité des contaminants. Ainsi, lorsque des sédiments anoxiques contenant du fer et/ou du manganèse sont exposés à l'air (par *e.g.*, lors de leur extraction *in situ*),

² Cette conclusion est basée sur des résultats d'essais létaux de courte durée (*i.e.*, 10 jours).

la co-précipitation de métaux avec des oxydes de fer ou de manganèse peut résulter en une diminution de leur potentiel toxique à l'égard des bioessais de laboratoire.

2.3.6 Batteries de tests

Il est reconnu que les bioessais varient en terme de sensibilité au regard de produits toxiques spécifiques. De plus, la disponibilité biologique des divers produits toxiques dans un sédiment peut varier considérablement en fonction des organismes testés. En conséquence, il est relativement difficile de prévoir le test qui offre la meilleure sensibilité pour procéder à une caractérisation des effets biologiques, d'autant plus que les sédiments présentent souvent un mélange de divers polluants. C'est pourquoi il est recommandé d'utiliser une série de bioessais au lieu d'un seul. La composition d'un jeu de bioessais est alors fonction des objectifs de l'étude en question et de la conciliation entre divers facteurs tels que les contraintes budgétaires, la perte minimale d'information, la sensibilité et le pouvoir discriminant des tests.

Lors d'un atelier sur l'approche triade tenu en septembre 1996 (Chapman *et al.*, 1997) lequel a réuni divers experts en écotoxicologie des sédiments, des recommandations ont été formulées pour l'emploi de cette méthode triade élaborée par Long et Chapman (1985). Ces recommandations visant l'emploi d'une batterie de bioessais sont les suivantes:

- Sélection de tests de toxicité discriminants faisant appel à diverses espèces et paramètres d'effet;
- Sélection de paramètres d'effet complémentaires et qui incluent la mortalité, ainsi que la croissance ou la reproduction;
- Sélection de voies d'exposition différentes qui tiennent compte de la diversité au niveau de la physiologie des organismes;
- Validation sur le terrain des résultats de toxicité obtenus en laboratoire.

Les critères additionnels suivants ont été proposés par la US EPA (2002):

- inclusion dans la batterie de tests employant *Hyallela azteca* et *Chironomus tentans*, en raison de leur importante pertinence écologique;
- comparaison des résultats des tests de toxicité à ceux obtenus avec des échantillons témoins ou de référence appropriés.

Plusieurs études avaient pour but de définir une batterie de bioessais pour un écosystème ou un projet particulier, que ce soit pour des sédiments lacustres ou marins. A titre d'exemple pour des sédiments lacustres, Burton *et al.* (1996) ont évalué 24 bioessais pour leur sensibilité et leur potentiel à discriminer le potentiel toxique de sédiments prélevés dans des sites d'intérêt prioritaires de la région des Grands Lacs. Cette étude faisait partie du projet ARCS (Assessment and Remediation of Contaminated Sediments) de l'US EPA. Les organismes d'essais incluaient: des poissons, éphémères, amphipodes, chironomes, cladocères, rotifères, macrophytes, algues et bactéries. Les recommandations suivantes ont été formulées sur la base des résultats obtenus:

- pour la majorité des sites, une batterie composée de deux ou trois bioessais est suffisante pour la détection d'effets toxiques;
- la batterie minimale devrait inclure deux espèces parmi les suivantes, quatre paramètres d'effet, et représenter l'un des trois groupes suivants :

Groupe 1 : a. *H. azteca* (14 j, survie, longueur et maturation sexuelle),
b. *Ceriodaphnia dubia* (7j, survie et reproduction), *Chironomus riparius* (14j, survie et longueur), *Daphnia magna* (7 j, survie et reproduction), *Pimephales promelas* (7j, survie et poids des larves, *Diporeia* (5j, évitement/préférence, ou *Hexagenia bilineata* (10j, survie et fréquence de mue)

Groupe 2 : a. *C. dubia* ou *C. riparius* (paramètres indiqués ci-dessus)
b. *Diporeia* ou *H. bilineata*

Groupe 3 : a. *D. magna*
b. *P. promelas*
c. *Diporeia* ou *H. bilineata*

Une étude réalisée au Québec par BEAK International et le Centre Saint-Laurent d'EC (Côté *et al.*, 1998a) a évalué 18 bioessais en fonction de leur potentiel à prédire les effets sur des invertébrés benthiques, la structure des communautés benthiques et le niveau de contamination des sédiments, et de critères pratiques (temps requis pour la préparation, durée, efficacité, coût, et disponibilité des organismes d'essais) et scientifiques (reproductibilité, répétitivité, pertinence écologique et degré de validation). Les résultats ont permis de recommander l'approche étape par étape suivante:

Etape 1 : a. *Selenastrum capricornutum* (72h, croissance, phase solide-humide),
b. test ATP (biomasse microbienne, sédiment entier)

- Etape 2 :
- a. *H. azteca* ou *C. riparius* (14j, survie, sédiment entier)
 - b. *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit™;24h, survie, eau interstitielle) ou *D. magna* (48h, survie, eau interstitielle)
 - c. *Hydra attenuata* (96h, survie, eau interstitielle)
 - d. *Vibrio fischeri* (15 min, bioluminescence, eau interstitielle),
 - e. *SOS Chromotest* (2h, génotoxicité, eau interstitielle ou extrait organique)

Des batteries de bioessais ont également été définies pour l'évaluation de sédiments marins. Par exemple, au Canada, l'immersion en mer de déblais de dragage est une activité réglementée en vertu de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (LCPE), 1999. Les bioessais sont l'un des outils utilisés pour le suivi environnemental après la mise en dépôt des déblais de dragage. L'objectif de ces suivis est de s'assurer que les activités d'immersion de matières draguées n'entraînent pas d'effets néfastes pour la santé de l'écosystème au site d'immersion. La batterie requise pour les études de suivi comporte les trois bioessais suivants:

- a. *V. fischeri* (20 min, bioluminescence, eau interstitielle et phase solide-humide),
- b. *Lytechinus pictus* (20 min, fécondation, eau interstitielle),
- c. *Amphiporeia virginiana* (10j, survie, sédiments entiers).

Ces deux dernières batteries ont été utilisées dans le cadre de cette thèse. Leur application pour le calcul de l'indice SED-TOX est décrite au Chapitre V et VI.

2.3.7 Avantages et désavantages des bioessais

Les bioessais se sont révélés, dans la plupart des cas, des outils rapides, relativement peu coûteux, qui offrent l'avantage de mettre en évidence la présence de contaminants non décelés par l'analyse chimique, et qui reflètent la toxicité de la fraction biodisponible des contaminants. Les bioessais sont les seuls outils qui fournissent des informations quantitatives sur la toxicité des sédiments. Ils prennent en considération l'ensemble des contaminants qui y sont présents et permettent de discriminer les échantillons de sédiments contaminés de ceux qui ne le sont pas. De plus, plusieurs méthodes standardisées ont été établies. Cependant, puisqu'ils sont réalisés en laboratoire, en conditions contrôlées, les effets des variables environnementales (telles que la granulométrie, le pourcentage de carbone organique, et la présence de contaminants naturels tel

que l'azote ammoniacal) peuvent rendre l'interprétation difficile. De plus, l'extrapolation des résultats de laboratoire afin de prédire le danger à l'égard du milieu naturel est parfois critiquée. Il est aussi difficile d'identifier les causes des effets observés à partir de tests de toxicité. Ainsi, il s'avère essentiel de profiter de la complémentarité des approches chimique, biologique et toxicologique.

2.3.8 Outils d'évaluation : les indices de toxicité

L'une des applications courantes des bioessais est de classer les échantillons ou les sites sédimentaires selon la sévérité du potentiel toxique qu'ils représentent. Bien souvent, le classement est utilisé pour assigner les priorités de gestion. La difficulté réside non pas dans la réalisation de la batterie de bioessais mais dans la façon d'en intégrer les résultats pour établir le classement des sites d'intérêt. Pour intégrer les multiples données dérivées d'une batterie, il a été proposé de les réduire en une valeur unique (i.e., un indice de toxicité) dans le but d'exprimer le potentiel de danger relatif des divers échantillons. Il importe toutefois de noter que la construction d'un seul indice pour intégrer différentes formes de toxicité ne fait pas l'unanimité (voir § 2.3.8.1) et il n'existe pas de convention fixe sur le développement de tels indices. En effet, ces indices sont souvent critiqués en raison de leur simplification conceptuelle qui implique une perte considérable d'information sur les bioessais uniques.

Certains indices, comme le Barème d'Effets Écotoxiques Potentiels (connu aussi sous l'appellation « BEEP » et décrit de façon brève ci-dessous mais de façon plus détaillée au Chapitre III), sont conçus pour une batterie fixe de bioessais et un type particulier d'échantillons. Alors que d'autres indices, comme le SED-TOX qui fait l'objet du présent document, sont plus flexibles – ils peuvent incorporer diverses batteries bioanalytiques, selon l'objectif et la problématique à l'étude, et peuvent s'appliquer à plus d'un type d'échantillons.

Le BEEP (Costan *et al.*, 1993), développé dans le cadre du Plan d'Action St-Laurent (1993-1998), est conçu pour l'évaluation écotoxicologique de matrices environnementales liquides (e.g., effluents industriels). Cet indice de toxicité, qui a été appliqué à 77 échantillons d'effluents industriels provenant de divers secteurs industriels du Québec, intègre les résultats de

tests biologiques (bioessais) représentatifs de plusieurs niveaux trophiques du milieu aquatique et de divers types de toxicité (léthalité aiguë, chronique, et génotoxicité). Il permet d'évaluer et de comparer le potentiel toxique des échantillons à l'étude en intégrant:

- les mesures de toxicité de différents bioessais
- la persistance de la toxicité (reprise des tests sur un échantillon soumis à une étape de biodégradation de cinq jours)
- le caractère (multi) spécifique de l'agression toxique (nombre d'espèces aquatiques affectées par l'effluent)
- le débit de l'effluent (m^3/h) permettant d'estimer la charge toxique.

L'ensemble est exprimé par une valeur sur une échelle logarithmique (\log_{10}) de 0 à 10. En théorie, l'échelle varie de 0 à l'infini. En pratique, la valeur obtenue dépasse rarement 8, vu la croissance logarithmique. Une valeur de 7 et plus indique un très fort potentiel toxique.

Un autre indice permettant d'évaluer la toxicité d'effluents a été développé et appliqué en France par Vindimian *et al.* (1999). Les essais biologiques portent sur la toxicité aiguë et chronique envers des organismes représentatifs de divers niveaux trophiques à l'exception du poisson. Le débit, qui définit la pression de l'effluent sur le milieu récepteur, est également introduit dans la formule sous forme logarithmique. Après consultation d'experts pour obtenir un classement des effluents en fonction des résultats, le choix d'une batterie et un calcul d'indice le plus représentatif possible de l'avis des experts a été calculé par une méthode de régression.

Chèvre (2001) a construit un indice qui permet d'intégrer les données d'une série de biomarqueurs (méthallothionéines, activité du cytochrome P45001A1, génotoxicité, peroxydation des lipides, vitéline, phagocytose, et activité estérasique) afin d'estimer le potentiel toxique d'échantillons liquides (e.g., eau de surface) vis-à-vis d'organismes exposés. Cette approche, fondée sur la théorie des ensembles approximatifs (Pawlak, 1982) se base également sur la détermination de classes représentatives de valeurs faibles, moyennes et élevées des différents biomarqueurs, déterminées à partir de valeurs existantes.

L'indice EDAR (Ronco *et al.*, 2006) fait appel à une batterie de quatre (4) bioessais standardisés qui ont été soumis à des exercices d'inter-calibration dans huit (8) laboratoires faisant partie du réseau WaterTox mis sur pied par le Centre de recherche et de développement international (CRDI, Ottawa, Canada; Forget *et al.*, 2000). Le calcul de l'indice EDAR se base sur la moyenne des réponses obtenues pour un échantillon donné.

Le SED-TOX, qui est fondé sur le principe de l'indice BEEP décrit ci-haut, est également un indice qui incorpore des bioessais réalisés à plusieurs niveaux trophiques. Cependant, puisque le SED-TOX est applicable à des matrices solides (e.g., sédiments, boues, sols), il existe des différences importantes. Par exemple, le SED-TOX tient compte des phases sédimentaires. L'indice SED-TOX, qui fait l'objet de la présente thèse, est exposé en détails au Chapitre III, alors que son application et sa validation sont exposées aux Chapitres V et VI.

2.3.9 Avantages et désavantages des indices intégrateurs

Une évaluation fiable du potentiel toxique requière une méthode qui permet d'intégrer les mesures de toxicité prises à différents niveaux trophiques. Plusieurs études toxicologiques utilisent un faible nombre de bioessais et chaque mesure est interprétée séparément ce qui limite leur utilité à fournir une indication du potentiel toxique global de la matrice contaminée à l'étude. Une approche alternative, sur laquelle se base les indices de toxicité, est de définir et/ou d'utiliser une batterie bioanalytique, où chaque bioessai qui la compose fournit des informations sur un niveau trophique et un ou quelques paramètres d'effets particuliers et, de les intégrer, de façon à ce qu'ils fournissent une indication du potentiel toxique global des contaminants au site à l'étude.

La force des indices de toxicité est leur capacité à intégrer des mesures obtenues sur des individus et populations exposés à des mélanges de contaminants, augmentant ainsi la capacité de déceler des effets toxiques et fournissant une image plus complète des conditions toxicologiques au site d'intérêt que lorsque chaque bioessai est réalisé et interprété séparément. La combinaison de mesures toxicologiques multiples minimise les faiblesses de chaque mesure prise séparément. De plus, les indices intégrateurs, ou multimétriques, permettent d'organiser des données complexes et de réduire un ensemble de données en une forme qui facilite l'interprétation et la comparaison

inter-sites ou inter-stations. Enfin, lorsque ces indices sont accompagnés d'une grille de classification, ils procurent une base scientifiquement solide pour établir des critères quantitatifs de qualité des sédiments.

En revanche, les indices de toxicité sont souvent critiqués pour la perte d'information qu'ils engendrent au niveau de l'évaluation toxicologique, par l'intégration de la toxicité aiguë et chronique en une valeur unique ou agrégée. Souvent ces critiques ne considèrent pas comment ces indices doivent être utilisés. Par exemple, dans un but d'aide à la prise de décisions pour des actions de gestion à site sédimentaire à l'étude, il est irréaliste de croire que les décisions finales sont prises sur la base d'une seule valeur. Au contraire, les valeurs de l'indice calculé pour les sites de référence sont d'abord comparées à celles obtenues pour le site faisant l'objet de l'étude et si cette comparaison indique une perturbation toxicologique, chaque composante de l'indice est ensuite examinée pour tenter de dégager sa contribution à la valeur agrégée. De plus, ces critiques supposent que les données ayant servi au calcul de ces indices ne sont jamais examinées. Or, la nécessité d'examiner les composantes individuelles (voire même les données brutes) est implicite dans le processus d'interprétation des résultats.

Il est également justifié de croire que la formulation d'un indice de toxicité peut, si elle n'est pas faite avec précaution, mener à des biais dans les résultats. Afin de répondre à cette inquiétude, il importe de s'assurer dans la formulation de tels indices que les résultats finaux ou classements ne sont pas trop biaisés par un ou des essais plus sensibles. Par exemple, lors des essais préliminaires qui ont contribué à la formulation définitive de l'indice SED-TOX, nous avons remarqué que les bioessais chroniques, de par leur plus grande sensibilité comparativement aux tests aigus, prenaient un poids nettement plus important après la conversion des résultats en UT. Afin d'éviter un possible biais de l'indice apporté par les bioessais chroniques, il a été choisi d'attribuer un poids supérieur aux résultats provenant d'essais de létalité aiguë. Cette attribution a pour effet de normaliser la réponse des bioessais aigus et chroniques au sein de l'indice tout en amenuisant l'intensité des réponses produites par l'un ou par l'autre. Elle ne sous-estime en rien l'importance capitale que jouent les essais chroniques à protéger l'environnement hydrique par

leur mise en évidence d'effets plus subtils, lesquels, bien entendu, peuvent présager des répercussions indésirables au niveau de populations et de communautés d'un écosystème.

2.4 COMPLÉMENTARITÉ DES TROIS PRINCIPAUX TYPES D'INDICATEURS

Le tableau II.1 reprend les principales forces et faiblesses des trois types d'indicateurs décrits en § 2.3. Devant leurs limitations respectives, il est maintenant bien reconnu qu'on ne doit pas privilégier un seul outil d'évaluation de la qualité des sédiments pour mettre en évidence des effets biologiques néfastes. C'est plutôt une utilisation conjointe appropriée de différents outils qui permettra d'obtenir l'information la plus utile (Luoma et Carter, 1993; Chapman, 1995).

Tableau II.1 Forces et faiblesses des méthodes d'évaluation de la qualité des sédiments

<u>Indicateurs chimiques</u>
Forces
<ul style="list-style-type: none"> • La source de pollution est facilement identifiée • les stratégies de traitement sont facilement mises en œuvre • Les résultats sont faciles à communiquer • Les recommandations pour un site géographique précis sont faciles à formuler/appliquer • Les coûts d'analyses sont peu importants car seuls quelques contaminants sont pris en compte
Faiblesses
<ul style="list-style-type: none"> • Seuls les contaminants qui sont connus et qui ont été analysés sont pris en compte • La biodisponibilité des contaminants n'est pas considérée • Les interactions possibles dans les mélanges sont ignorées • Il n'existe pas de critères à l'égard de bon nombre de substances chimiques • Les rapports de cause à effet ne peuvent habituellement pas être déduits • Les recommandations visent la protection des usages délicats et leur dépassement ne signifie pas automatiquement un effet néfaste (par e.g., les contaminants ne sont pas biodisponibles ou il n'y a pas d'espèces sensibles) • Les coûts analytiques peuvent être importants si plusieurs contaminants sont pressentis/suspectés
<u>Indicateurs biologiques</u>
Forces

<ul style="list-style-type: none"> • Ils constituent des mesures directes de la santé des communautés benthiques dans le milieu • Les effets à long terme sont intégrés et des tendances temporelles peuvent être dégagées • Ils sont réalistes d'un point de vue écologique • Les effets des incidences non-chimiques (e.g., la détérioration de l'habitat) sont analysés, en plus de ceux liés aux contaminants
<p>Faiblesses</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les changements dus aux contaminants par rapport à ceux attribuables à d'autres facteurs environnementaux (comme les caractéristiques physiques) sont difficiles à cerner • L'incidence de substances chimiques est difficile à évaluer • Ils sont coûteux en temps et en ressources, surtout si l'on veut obtenir les tendances • Ils se limitent au dépistage des effets néfastes déjà survenus • La bioaccumulation ou le potentiel de bioamplification ne sont pas évalués
<p>Indicateurs toxicologiques</p>
<p>Forces</p> <ul style="list-style-type: none"> • La toxicité de mélanges de contaminants (en supposant l'emploi d'échantillons de contrôle correctement assortis) est évaluée • La toxicité de substances chimiques pour lesquelles il n'existe pas de critères est mesurée • La biodisponibilité des contaminants est prise en compte • Ils constituent de bons outils de prévision des incidences sur les communautés benthiques
<p>Faiblesses</p> <ul style="list-style-type: none"> • Il peut être difficile de déterminer la toxicité liée à un contaminant précis dans un mélange • Ils se limitent aux organismes et aux conditions d'essai pour lesquels des protocoles existent • Lorsque les conditions d'essai et celles sur le terrain sont différentes, il est difficile d'extrapoler • La manipulation des sédiments peut introduire une toxicité en laboratoire (artefact) • Puisqu'une substance n'est pas identifiée, il est difficile d'orienter les technologies de traitement

Modifié d'après Chapman *et al.*, 1997; Federal Register, 1998; Borgmann *et al.*, 2001; US EPA, 1991b.

L'utilisation d'un seul type d'informations (e.g., données physico-chimiques) à l'exclusion de toute autre donnée d'appui peut donner lieu à des conclusions ou à des prévisions erronées sur la qualité des sédiments. Seule l'utilisation complémentaire de toutes données pertinentes permettra de prendre des décisions concrètes et éclairées à l'égard de la qualité des sédiments. Par exemple, la chimie des sédiments, leur potentiel toxique et les données de communautés benthiques peuvent être utilisées ensemble (en parallèle) dans une « triade » pour établir l'ensemble de la preuve que les sédiments contaminés sont liés à des effets néfastes sur des organismes de l'écosystème aquatique. L'intégration de multiples outils dans une approche de type « triade » a le potentiel de réduire substantiellement les incertitudes associées à chacune des approches considérées individuellement, et ainsi améliorer les décisions de gestion (Long et Chapman, 1985; Chapman, 1992; Canfield *et al.*, 1996; Ingersoll *et al.*, 1997a; Wenning et Ingersoll, 2002).

CHAPITRE TROIS

ÉLABORATION DE L'INDICE SED-TOX

3.1 L'INDICE SED-TOX : HISTORIQUE

L'Indice SED-TOX s'est inspiré de l'approche BEEP (« Barème d'effets écotoxiques potentiels »), à l'origine conçue pour l'évaluation du potentiel toxique d'effluents industriels (Costan *et al.*, 1993). Depuis, la stratégie BEEP a été appliquée par plusieurs pays et fait l'objet d'un certain raffinement (Blaise et Férard, 2005). Le but des deux approches est identique : intégrer un ensemble de données bioanalytiques (i.e., générées à partir d'une batterie multitrophique de bioessais) en une seule valeur qui s'avère utile pour l'évaluation du danger toxicologique global d'un échantillon à l'égard d'organismes exposés. Le « danger » toxicologique reflète la possibilité que des effets toxiques néfastes se produisent ou puissent se produire suite à une exposition à un ou des contaminants présents à un site sédimentaire particulier (US EPA, 1992).

Les deux approches sont similaires en plusieurs points :

- toutes deux de nature déterministe, elles impliquent la transformation des données bioanalytiques sur une échelle unique, de façon à les rendre comparables,
- les deux approches requièrent : (i) la transformation des réponses bioanalytiques en Unité Toxique (*UT*) – expression quantitative du potentiel toxique des substances dans un échantillon – sans tenir compte de substances responsables de la toxicité observée, et (ii) le calcul de leur moyenne. Les *UTs* se calculent comme suit : $UT = 100/\text{mesure}$, où la réponse peut être exprimée de différentes façons. Dans le cas du BEEP, les réponses toxiques sont rapportées en concentration seuil d'effet (CSE), ce qui représente la moyenne géométrique de la concentration minimale dans une série de dilutions à laquelle des effets nocifs sont observés (CMEO) et la concentration la plus élevée sans effet observé (CSEO). La CSE représente un estimé de la concentration d'effluent à partir de laquelle un effet toxique peut se manifester. Dans le cas du SED-TOX, les réponses toxiques varient selon le bioessai utilisé.

- l'intégration des données bioanalytiques en une valeur unique et sa transformation en unité logarithmique, augmentant ainsi son potentiel discriminant, est une autre similarité liant les deux indices.

Les deux approches présentent toutefois des distinctions notables. Elles sont principalement liées aux spécificités des matrices environnementales évaluées (i.e., liquides dans le cas du BEEP et liquides/solides dans le cas du SED-TOX).

- Puisque le SED-TOX s'applique à des échantillons de sédiments, il doit tenir compte de la diversité de phases possibles d'exposition, certaines étant de nature aqueuse (e.g., eau interstitielle, extrait organique) ou solide (i.e., phase solide-humide et sédiment entier). Cette complexité se retrouve dans le calcul de l'indice SED-TOX qui comporte cinq étapes de conversion des données avant leur intégration dans une valeur globale. En revanche, le BEEP n'en comporte qu'une seule (i.e., transformation en *UTs*).
- De plus, dans le calcul de l'indice BEEP, chaque bioessai a un poids identique, sans égard à sa sensibilité relative. Dans l'approche SED-TOX, un poids plus élevé est attribué aux bioessais de toxicité aiguë (voir § 2.3.8.1).
- Le SED-TOX attribue également un poids moins élevé aux bioessais réalisés sur extraits organiques car leur pertinence environnementale est moins importante en raison des changements que peut causer la procédure d'extraction sur la biodisponibilité des contaminants.
- Une autre distinction entre le BEEP et le SED-TOX comprend l'établissement de classes de danger potentiel. Ces classes de toxicité (i.e., marginale, faible, moyenne, élevée) ont été établies à partir de données existantes (voir le Chapitre III pour des détails sur la détermination des classes). La classe « marginale » a été établie à partir de données provenant de sites de référence relativement non contaminés localisés dans le fleuve Saint-Laurent. Un indice SED-TOX élevé pour un site indique une probabilité de danger plus élevée pour les organismes exposés.
- Une autre distinction importante existe au niveau de l'étape d'intégration des données dans le calcul de l'indice final: le BEEP implique la somme des unités toxiques (*UTs*) obtenue pour chacun des bioessais, la multiplication de cette somme par le nombre total de mesures démontrant des effets toxiques (valeur maximale de $N = 10$) et le débit de l'effluent en m^3/h , ainsi que la transformation de cette valeur en logarithme (on ajoute la valeur « 1 » à la formule BEEP pour situer la limite inférieure de l'indice à « 0 », lorsque tous les bioessais s'avèrent insensibles à l'effluent évalué). L'indice BEEP représente ainsi la contribution de l'effluent au débit total du cours d'eau récepteur en *UT/h*. Le BEEP varie généralement entre 0 et 10. En revanche, l'intégration des réponses toxiques du SED-TOX passe par les quatre étapes décrites ci-dessous (voir s.3.5.2) et l'indice final peut varier entre 0 et 4.

- Enfin, le BEEP comporte généralement une batterie bien définie de bioessais alors que le SED-TOX peut s'avérer plus flexible en ce sens (les Chapitres V et VI fournissent deux exemples d'applications du SED-TOX avec des batteries bioanalytiques différentes). En effet, le BEEP initialement conçu (Costan *et al.*, 1993) comporte quatre (4) bioessais, certains incorporant plus d'un paramètre d'effet et réalisés dans des conditions différentes, pour un total de dix (10) mesures toxicologiques:
 1. Croissance de l'algue *S. capricornutum* avant une étape de biodégradation
 2. Croissance de l'algue *S. capricornutum* après une étape de biodégradation
 3. Génotoxicité chez *E. coli* (SOS Chromotest) sans activation métabolique avant une étape de biodégradation
 4. Génotoxicité chez *E. coli* (SOS Chromotest) avec activation métabolique avant une étape de biodégradation
 5. Génotoxicité chez *E. coli* (SOS Chromotest) sans activation métabolique après une étape de biodégradation
 6. Génotoxicité chez *E. coli* (SOS Chromotest) avec activation métabolique après une étape de biodégradation
 7. Bioluminescence bactérienne (Microtox) avant une étape de biodégradation
 8. Bioluminescence bactérienne (Microtox) après une étape de biodégradation
 9. Survie de *C. dubia*
 10. Reproduction chez *C. dubia*

Tous ces bioessais sont reconnus fiables et supportés par des méthodes standardisées d'EC. Les essais réalisés après l'étape de biodégradation ont pour but de simuler le traitement biologique des eaux usées (Costan *et al.*, 1993). En raison de son coût relativement plus élevé à l'époque, l'essai avec *C. dubia* n'est réalisé qu'une seule fois (i.e., avant l'étape de biodégradation). Notons cependant que dans certains projets où le BEEP a été appliqué pour évaluer le potentiel toxique de matrices liquides (i.e., autres que ceux effectués dans le cadre du Plan d'Action Saint-Laurent), l'indice a été légèrement modifié afin de répondre aux besoins particuliers de l'étude et aux conditions environnementales du site étudié. Ainsi, pour l'évaluation des eaux de surface dans le bassin de la rivière Fraser, où la protection des salmonidés est un enjeu clé, le SOS Chromotest a été remplacé par un test aigu entrepris avec la truite arc-en-ciel (EC, 1993).

3.2 L'INDICE SED-TOX : DESCRIPTION GÉNÉRALE

L'indice SED-TOX est très polyvalent. Il a été conçu pour avoir une variété d'applications, accommodant divers types de sédiments (i.e., sédiments marins, estuariens, ou d'eau douce), d'essais toxicologiques (bactéries, algues, micro-invertébrés, etc. d'origines benthique, épibenthique ou pélagique), de phases sédimentaires (eau interstitielle, sédiment entier, extrait organique) et de paramètres d'effet (léthalité, inhibition de la croissance, inhibition de la reproduction, génotoxicité, etc.).

Bien que notre application de l'indice ait incorporé les quatre phases d'exposition typiquement utilisées dans les tests de toxicité sur sédiments — eau interstitielle (EI), extrait organique (EO), sédiment humide (SH), et sédiment entier (SE) — on pourrait également y inclure les éluutriats.

Le choix d'étude des matrices sédimentaires permet certes de palier à certaines contraintes (budget, équipement, expertise, temps, etc.), mais une certaine prudence s'impose dans le *design* expérimental, surtout lorsque l'objectif de l'étude exige une comparaison de sites. Dans ce cas, il importe que la batterie d'essais toxicologiques soit identique pour tous les sites, bien qu'en pratique ceci soit parfois difficile à réaliser.

3.3 PRÉLÈVEMENT DES SÉDIMENTS ET PRÉPARATION DES PHASES D'EXPOSITION

Chacune des phases d'exposition utilisées dans les essais de toxicité sur sédiments comporte des incertitudes et des avantages (Tableau III.1), ainsi que l'ont rapporté Burton (1991) et Ingersoll *et al.* (1997b). Ces incertitudes sont fonction des limites inhérentes aux essais (par exemple, les essais entrepris sur sédiment entiers sont en général reconnus comme étant plus pertinents d'un point de vue écologique que ceux réalisés sur eau interstitielle), mais également de l'importance des manipulations effectuées pour leur préparation. Ainsi, parce que les extraits organiques (EO) ne reflètent pas les conditions de biodisponibilité des contaminants associés aux sédiments, ils sont jugés moins pertinents. De façon similaire, les éluutriats et les sédiments humides peuvent, de par leur mode de préparation, modifier la biodisponibilité des contaminants.

Tableau III.1 : Avantages et inconvénients associés à l'évaluation de la toxicité de phases sédimentaires

Fractions	Forces	Faiblesses
Extrait Organique de sédiment entier (OE) ou (EO)	<ul style="list-style-type: none"> • Peut être préparé avec n'importe quel type de sédiments • Permet de déterminer une relation de concentration-réponse • Limite de résolution plus grande; plus sensible que les autres fractions pour détecter un effet • Permettent de discriminer les effets des polluants organiques extractibles par solvants de ceux des polluants inorganiques ou organiques moins solubles 	<ul style="list-style-type: none"> • Ne représente pas un mode d'exposition réaliste • Aucune technique d'extraction normalisée n'est présentement acceptée • La méthode d'extraction peut altérer la forme chimique des contaminants, ce qui pourrait modifier la réponse toxique • Approche réductionniste
Eau interstitielle (EI)	<ul style="list-style-type: none"> • Représente un mode d'exposition directe pour certaines espèces • Très grande variété de bioessais disponibles • Permet d'obtenir une courbe de concentration-réponse • On peut utiliser les résultats pour définir des critères pour les sédiments • Peut refléter un potentiel de toxicité pour les organismes présents dans la colonne d'eau 	<ul style="list-style-type: none"> • Il est difficile de recueillir l'eau interstitielle pour certains échantillons de sédiments • La méthode de récupération peut altérer la forme chimique des contaminants, ce qui pourrait modifier la réponse toxique • Ne s'applique pas aux organismes qui ingèrent des particules de sédiments • Approche réductionniste
Phase solide-humide (SH)	<ul style="list-style-type: none"> • Peut être utilisée avec tous les types de sédiments • Permet d'obtenir une courbe de concentration-réponse 	<ul style="list-style-type: none"> • La manipulation ou la méthode d'échantillonnage peuvent altérer la physico-chimie des sédiments • Risques d'interférences par les particules • Il existe peu de tests de toxicité comparativement à la fraction EI • Approche réductionniste
Sédiments entiers (SE)	<ul style="list-style-type: none"> • Représente un mode d'exposition très réaliste pour plusieurs espèces benthiques • Approche holistique et non réductionniste comme c'est le cas avec les fractions EO et EI • Les résultats peuvent servir à définir des critères pour les sédiments 	<ul style="list-style-type: none"> • La manipulation ou l'échantillonnage peuvent altérer la physico-chimie des sédiments • Des organismes indigènes peuvent être présents dans les échantillons et fausser la réponse des bioessais • Ne permet pas d'obtenir une courbe de concentration-réponse • Ne reflète pas la toxicité potentielle pour les organismes vivant dans la colonne d'eau

Source : modifié de Burton, 1991 et Ingersoll *et al.* (1997b).

Il a été clairement démontré que le prélèvement, la conservation et la préparation des sédiments pour la mise en œuvre des bioessais perturbent leur intégrité (Burton, 1992, ASTM, 1994, Burton, 1995, Day *et al.*, 1995), modifiant les gradients, la spéciation et la complexation des contaminants (Schuytema *et al.*, 1989; Moore *et al.*, 1995). Ce constat fait prendre conscience de la nécessité, dans le cadre d'une étude comparative (où par exemple l'indice SED-TOX est appliqué) d'assurer que les modes opératoires utilisés pour le prélèvement, la conservation et la préparation des sédiments sont identiques pour chacun des échantillons de sédiments afin de faciliter l'interprétation et la comparaison des différents sites d'intérêt. Bien qu'au cours des dernières années on ait assisté à l'émergence d'un grand nombre de méthodes et protocoles sur la mesure de la toxicité des sédiments, ainsi que de guides sur le prélèvement, l'entreposage et la manipulation des sédiments (ASTM, 1995, EC, 1994), il n'existe pas de marche à suivre normalisée qui soit universellement acceptée à l'heure actuelle. Le choix de la procédure doit tenir compte de l'objectif de l'étude et d'une appréciation des avantages et limites de chacune des phases.

Les procédures utilisées dans le cadre de la présente étude sont décrites ci-après.

Prélèvement des sédiments aux sites à l'étude

Les échantillons de sédiments, incluant ceux de référence, ont été prélevés à partir d'une benne de type Shipek (profondeur de pénétration de 0 à 10 cm). Après la fermeture de la benne sur sa prise, elle a été remontée en surface et soigneusement lavée à l'eau du site pour en déloger les matières susceptibles de contaminer l'échantillon au cours du transfert dans les contenants d'entreposage de polyéthylène haute densité (préalablement lavés) de 1 L étiquetés et fermés hermétiquement. Les échantillons ont ensuite été transportés dans des unités réfrigérées (à $4\pm 2^{\circ}\text{C}$) et transférés au réfrigérateur dès leur arrivée au laboratoire. Les bioessais ont ensuite été initiés dans les 72h suivant leur prélèvement.

Préparation des phases d'exposition en vue des bioessais

Les étapes effectuées pour préparer les différentes phases d'exposition en prévision des essais de (généro)toxicité sont décrites ci-après et résumées à la Figure III.1.

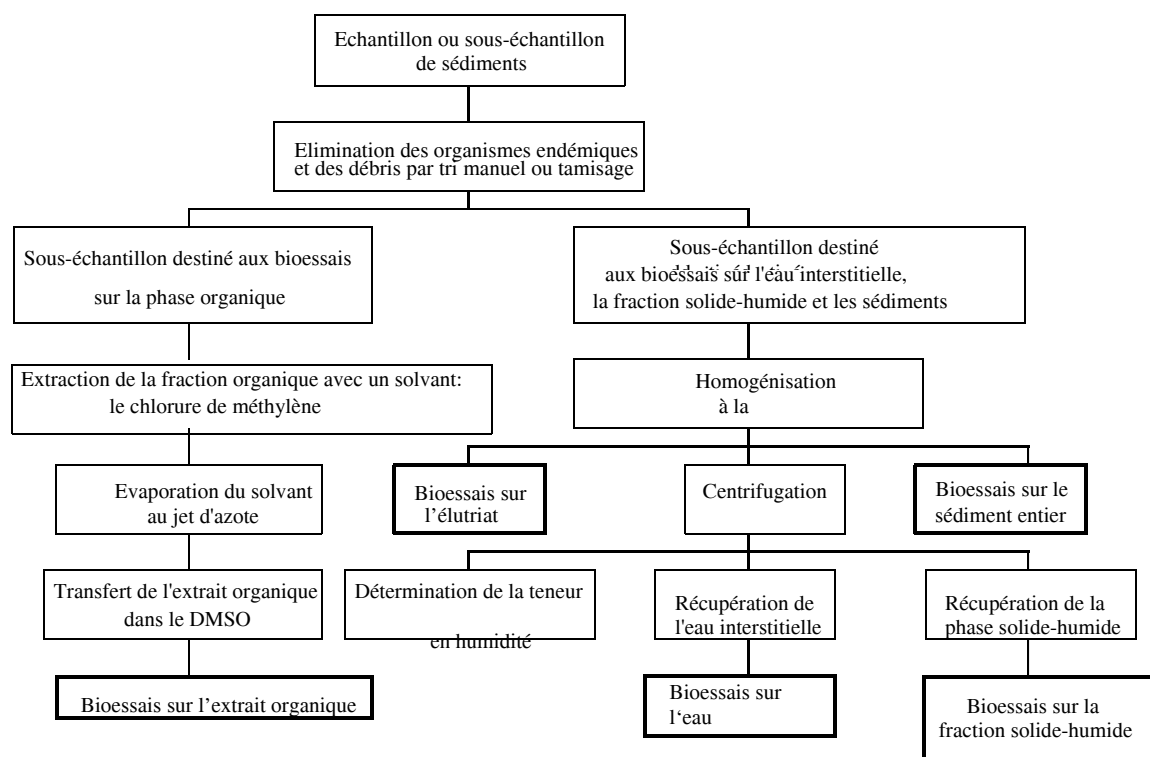


Figure III.1 : Préparation des phases sédimentaires pour les essais de (géo)toxicité

Eau interstitielle (EI)

Pour extraire l'EI, les échantillons de sédiments ont d'abord été homogénéisés manuellement à l'aide d'une spatule recouverte de Teflon^{MC} jusqu'à l'obtention d'une texture et couleur uniforme (5 min). Ensuite, ils ont été répartis entre les divers tubes à centrifuger [tubes coniques en polypropylène de 50-ml [préalablement lavés avec une solution acide (HNO₃, 10% v/v) et rincés trois fois avec de l'eau déionisée (MiliQ)], et centrifugés pendant 30 min (3,000 rpm, 15 °C) au moyen d'une centrifugeuse de grande capacité. L'eau de porosité a ensuite été décantée soigneusement dans des récipients de verre propres et conservée à l'obscurité à 4±2°C pendant 24h au plus.

Sédiment-humide (SH)

Une fois l'eau de porosité extraite, les SH résultant de cette opération ont été conservés dans des bouteilles de verre (30 ml) remplies à bord. Le pourcentage d'humidité résiduelle des sédiments humides, requis pour la conversion des données (voir section 3.5.1), a été déterminé à partir de

portions de 25 g de sédiments humides qui ont été séchées au four à 105°C pendant 24 h. Les portions ont ensuite été transférées dans un dessiccateur et le pourcentage d'humidité résiduelle déterminé par gravimétrie. Cette dernière étape permet de déterminer le poids du *sédiment sec*, dénommé composante z dans le calcul de l'indice SED-TOX. L'eau perdue par séchage correspond à la composante *eau interstitielle non-centrifugée* (y) du sédiment, tandis que celle recueillie par centrifugation est dénommée *eau interstitielle centrifugée* (x) (Figure III.2).

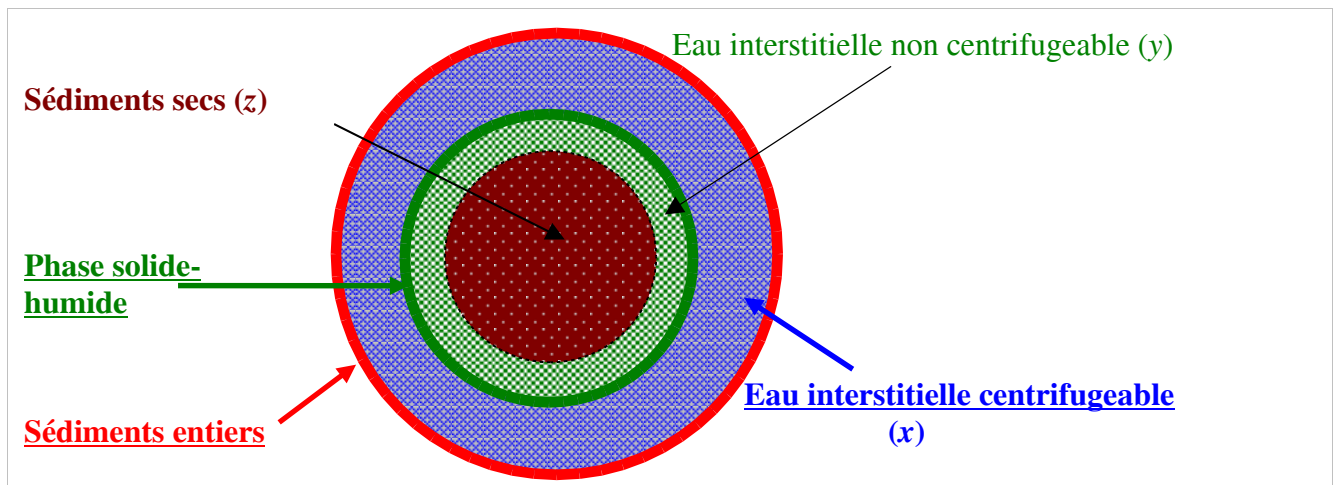


Figure III.2 : Schématisation simplifiée des fractions et composantes de la matrice sédimentaire³

Extrait organique (EO)

Il existe une grande variété d'approches qui font appel au couplage de techniques d'extraction, de concentration et de fractionnement (ECF) pour extraire la fraction organique des sédiments en vue de réaliser des essais de (géo)toxicité (White *et al.*, 1998a,b; Balch *et al.*, 1995; Gagné *et al.*, 1995; Gagné et Blaise, 1995; Hoke *et al.*, 1994; Marvin *et al.*, 1994; Ho et Quinn, 1993; Fernández *et al.*, 1992; Grifoll *et al.*, 1992; Johnson, 1992a; Langevin *et al.*, 1992; Holoubek *et al.*, 1990; Grifoll *et al.*, 1990; Metcalfe *et al.*, 1990; West *et al.*, 1986) Cependant, aucune de ces approches n'a été validée afin d'apprécier leur performance (reproductibilité); ceci s'explique possiblement par leur utilisation relativement peu fréquente comparativement à d'autres phases d'exposition plus communes (e.g., eau interstitielle). Au Chapitre IV, une procédure est décrite et

³ Les fractions apparaissent en souligné alors que les composantes apparaissent en *italique*. L'eau interstitielle est une composante sédimentaire et une fraction utilisée dans certains bioessais. La fraction organique extractible n'est pas représentée mais provient des sédiments entiers.

évaluée pour la préparation des extraits organiques en vue de la réalisation d'essais de génotoxicité.

Plusieurs facteurs jouent un rôle déterminant dans la composition chimique des fractions sédimentaires et, par conséquent, dans leur contribution relative de contamination au biote (Brown et Neff, 1993): solubilité dans l'eau, les partages inter-fractions des contaminants (coefficients de partage eau-octanol K_{ow} , eau-matière organique K_{oc} , etc.), et les particularités des sédiments (e.g., teneur en carbone organique, granulométrie et pH) (Figure III.3).

D'autres facteurs liés à l'échantillonnage et aux procédures de fractionnement ou d'extraction peuvent influencer la composition chimique des fractions et les résultats de toxicité. A titre d'exemple, on peut citer le choix du solvant pour l'extraction des substances organiques dans le cas de l'extrait (EO). A ce sujet, mentionnons que le chlorure de méthylène (i.e., dichlorométhane, ou DCM) est reconnu comme étant un solvant apolaire très efficace pour extraire une vaste gamme de substances organiques apolaires (Holoubek *et al.*, 1990).

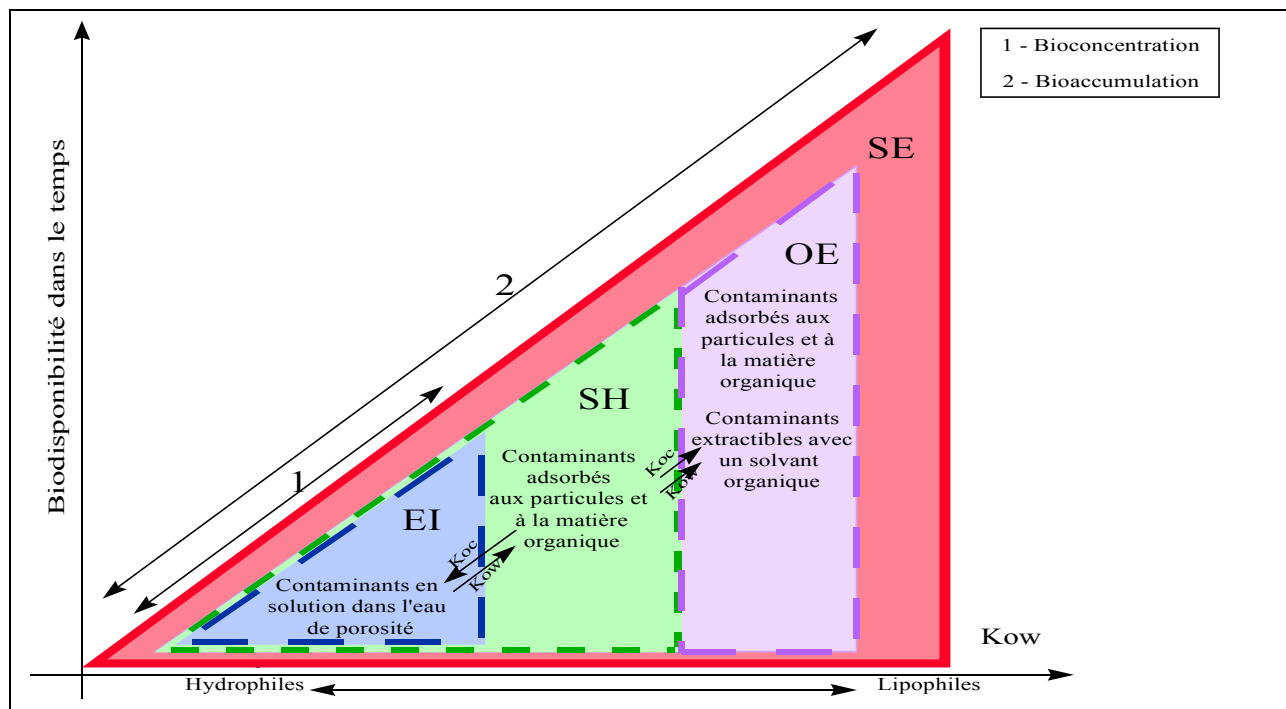


Figure III.3 : Biodisponibilité potentielle des contaminants

3.4 SÉLECTION DES PARAMÈTRES DE MESURE

Plusieurs paramètres de mesure peuvent être considérés pour exprimer la toxicité des sédiments. Le choix du paramètre de mesure dépend entre autres du type de réponse étudiée. Pour des données discrètes ou quantiques (tel que la survie), les réponses sont exprimées en incidence d'effets associés à la concentration analysée.

En revanche, deux types de paramètres sont utilisés pour des données continues (e.g., croissance, nombre d'embryons, activité enzymatique), à savoir la concentration seuil d'effet (CSE) ou une prédiction dérivée de la relation de concentration-réponse (CI_p).

3.4.1 *Incidences d'effets*

Lorsqu'une seule concentration est testée, il n'est pas possible d'estimer une CSE ou une CI_p . La réponse mesurée correspond alors à l'incidence d'effet observé à la concentration testée. Le test de létalité des amphipodes (EC, 1992c) en est un exemple. Les organismes sont soumis aux sédiments entiers et le paramètre d'effet mesuré est le pourcentage de mortalité après 10 jours d'exposition.

3.4.2 *Concentration seuil d'effet (CSE)*

La CSE, qui est la moyenne géométrique de la CSEO et de la CMEO, exprime la concentration minimale à laquelle un effet toxique peut être observé. La CMEO (concentration minimale avec effet observé) est la plus faible concentration testée à laquelle un effet toxique est observé tandis que la CSEO (concentration sans effet observé) est la plus forte concentration testée à laquelle un effet néfaste n'est pas observé. La CSEO est en fait la concentration qui se trouve juste en deçà de la CMEO dans la série de dilutions testée.

L'utilisation de la CSE pour rapporter la toxicité d'un échantillon comporte certaines limitations. En premier lieu, la CSE n'étant pas dérivée de l'ensemble des concentrations testées, elle ne fournit aucune information sur la sévérité de la réponse ou la sensibilité des organismes à l'échantillon. En l'occurrence, une faible CSE (i.e. échantillon causant une réponse toxique à une

faible concentration) peut suggérer une situation plus préoccupante qu'une CSE plus élevée (i.e. échantillon causant des effets à une concentration relativement plus élevée), alors que l'intensité de la réponse associée à cette dernière est plus forte.

3.4.3 Prédiction dérivée d'une relation de concentration-réponse

Le modèle de concentration-réponse traduit l'intensité des effets observés en fonction des concentrations testées et permet d'estimer une concentration qui produit un niveau donné d'effet (CI_p). On fait appel à la CI_p pour exprimer la toxicité des matériaux dans les tests de toxicité aiguë comme dans les tests de toxicité chronique mesurant la croissance et la reproduction. Son utilisation a été recommandée par certains auteurs (Barthouse *et al.*, 1987; Weber *et al.*, 1989; Bruce et Versteeg, 1992). Par ailleurs, la CI_p n'est pas limitée aux concentrations testées comme c'est le cas pour la CMEO et la CSEO. Cependant, la relation de concentration-réponse n'est pas toujours monotonique (e.g.. phénomène de l'hormèse où la croissance algale se trouve stimulée après exposition à de faibles concentrations d'un produit et inhibée à de plus fortes concentrations). Il peut s'avérer difficile, dans ces cas, d'estimer une CI_p à moins de soumettre les données à un modèle mathématique linéaire ou non linéaire afin d'identifier celui qui décrit le mieux la relation concentration-réponse obtenue.

3.5 DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INDICE SED-TOX

Les tests de toxicité composant une batterie bioanalytique sont généralement sélectionnés de façon à fournir des informations non redondantes à différents niveaux trophiques et paramétriques. Il en résulte toute une série de données bioanalytiques, exprimées sous diverses formes (e.g., CSE, CI_{50}) et unités de mesure (tels que $mg.L^{-1}$, % v.v⁻¹), ce qui complique l'évaluation et l'interprétation des résultats. La méthode d'évaluation doit donc permettre d'exprimer selon une échelle unique les données obtenues à partir des différents tests de toxicité, afin de simplifier le processus de prise de décision.

L'approche SED-TOX propose une démarche systématique à suivre pour uniformiser les données de toxicité et les intégrer dans un indice relatif de danger potentiel, facilitant ainsi l'interprétation des résultats et la prise de décision sur les besoins de gestion. L'article intitulé « *The SED-TOX*

Index for Toxicity Assessment of Contaminated Solid Matrices », présenté à l'Annexe 2, fournit également une description de l'Indice que nous résumons ci-dessous, et l'Annexe 3 fournit un exemple concret du calcul de l'Indice.

3.5.1 Conversion des données

Une étape d'uniformisation des données de toxicité doit être réalisée avant leur intégration dans le calcul de l'indice. À cette fin, l'approche SED-TOX préconise l'application de trois traitements mathématiques aux données bioanalytiques:

1. Conversion en unités toxiques (UT_{hum});
2. Expression des unités toxiques en fonction du poids sec de sédiments (UT_{sec});
3. Conversion en facteurs d'accroissement de la toxicité (Fac) en fonction de la limite de détection (L_{tox}) du bioessai.

Le premier traitement est relativement simple à effectuer (voir 3.5.1.1). Pour la deuxième étape, il faut au préalable estimer la masse sèche de sédiments soumise à l'essai (voir 3.5.1.2) et identifier les composantes de la matrice sédimentaire qui peuvent influencer la toxicité de l'échantillon (voir 3.5.1.3). Enfin, la troisième étape requiert la détermination de la limite de détection (voir 3.5.1.4) qui servira de base au calcul des facteurs d'accroissement de la toxicité (Fac). Les équations décrites ci-dessous sont reportées en Annexe 3 accompagnées d'un exemple fictif de données.

3.5.1.1 Conversion en Unités Toxiques

Le concept des unités toxiques est utilisé en première étape pour uniformiser les unités de mesure. Les unités toxiques expriment le nombre de dilutions requis pour détecter l'effet recherché.

Données non quantiques (i.e., continues, quantitatives)

Pour l'ensemble des bioessais réalisés avec plusieurs concentrations de sédiments, une unité toxique est définie comme étant le ratio de la plus forte concentration testée (C_{max}) sur la concentration correspondant au niveau d'effet évalué :

$$UT_{\text{hum}} = \frac{C_{\text{max}} * D}{C_{\text{tox}}} \quad (1a)$$

où : UT_{hum} = unité toxique exprimée en fonction du poids humide de sédiments
 C_{max} = plus forte concentration testée (% v/v, mg/L, ou µl/ml)
 C_{tox} = correspond à la CI_p ou à la CSE mesurée (% v/v, mg/L, ou µl/ml)
 D = facteur de dilution requis pour obtenir la C_{max}

Lorsque la plus forte concentration testée ne provoque aucun effet toxique, la C_{tox} prend alors la valeur de la C_{max} .

Données quantiques (non continues ou binaires, e.g., létalité)

Pour les données quantiques, l'équation suivante est utilisée :

$$UT_{\text{fw}} = \frac{R_{\text{max}}}{R_{\text{tox}}} \quad (1b)$$

où : R_{max} = 100% (i.e., la valeur maximale de la réponse possible, e.g. la survie)
 R_{tox} = correspond à la réponse mesurée (e.g., en % de survie)

3.5.1.2 Expression des Unités Toxiques en Fonction du Poids Sec de Sédiments

La deuxième étape de conversion des données requiert la détermination de la masse de sédiment sec (z) composant chacune des phases d'exposition. Cette détermination se fait comme suit, à partir des valeurs empiriques de x et y , obtenues par gravimétrie :

$$z = (1 - tm) \quad (2a) \quad y = \left[\frac{rm \times z}{1 - rm} \right] \quad (2b) \quad x = 1 - (y + z) \quad (2c)$$

où : x = ratio d'eau interstitielle centrifugeable (g d'eau interstitielle/g sédiment entier)
 y = ratio d'eau interstitielle non-centrifugeable (g d'eau interstitielle/g sédiment entier)
 z = ratio de sédiment sec (g sédiment sec/g sédiment entier)
 tm = humidité totale (g d'eau interstitielle/g sédiment entier, obtenue après séchage)
 rm = humidité résiduelle (g d'eau interstitielle/g sédiment humide, obtenue par gravimétrie)

Les variables x , y et z ont toutes une valeur comprise entre 0 et 1.

3.5.1.3 Conversion des UT en fonction de la masse sèche de sédiments (UTsec)

La variable p représente la somme des composantes (x , y , et/ou z), qui se retrouvent dans la phase sédimentaire d'intérêt pour un bioessai donné (voir Fig. III.2). Ainsi,

- pour les bioessais sur l'EI : $p = x$
- pour les bioessais sur sédiments entiers : $p = x + y + z$ (i.e., $p = 1$)
- pour les bioessais sur les SH : $p = y + z$
- pour les bioessais sur extraits organiques : $p = x + y + z$ (i.e., $p = 1$)

Le rapport de la somme de ces composantes (p) sur la variable z permet de convertir les UT_{hum} en UT_{sec} en utilisant la formule suivante :

$$\boxed{UT_{sec} = UThum * \frac{p}{z}} \quad (3)$$

où : $p =$ somme des composantes sédimentaires considérées [x , y et(ou) z]
 $z =$ ratio de sédiment sec (g sédiment sec/g sédiment entier)

3.5.1.4 Conversion en Facteur d'Accroissement de la Toxicité (Fac)

Afin de réduire l'écart entre les données bioanalytiques, la toxicité minimale détectable (L_{tox}) est déterminée pour chacun des bioessais réalisés et les réponses toxiques obtenues avec les échantillons à l'étude sont comparées à cette valeur minimale. La L_{tox} s'exprime en UT_{sec} et son calcul se fait différemment selon les conditions d'essai :

Lorsque les tests de toxicité portent sur une série de concentrations de l'échantillon, l'estimation de la L_{tox} nécessite la détermination de la limite de détection (L_{tox}) de la toxicité de l'échantillon:

$$L_{tox} = \boxed{D * \frac{\bar{P}}{z}} \quad (4)$$

où : $L_{tox} =$ plus faible concentration toxique (en UT_{sec})
 $D =$ facteur de dilution utilisé pour un bioessai donné

- \bar{p} = valeur arithmétique des valeurs dérivées pour la variable p pour la gamme d'échantillons à l'étude
- \bar{z} = moyenne arithmétique des valeurs dérivées pour la composante z (voir 2c) pour la gamme d'échantillons à l'étude

La détermination du facteur d'accroissement de la toxicité (Fac), i.e., la toxicité de l'échantillon par rapport à la limite de détection de l'essai, dépend du type de paramètre de mesure utilisé. Pour les bioessais permettant de mesurer des réponses sur une base continue (e.g., % de croissance), le Fac se calcule par le ratio entre le résultat de toxicité obtenu (UT_{sec}) et la limite de détection du bioessai (L_{tox}).

$$FAC = \frac{UT_{sec}}{L_{tox}} \quad (5)$$

Dans les cas où le numérateur (réponse mesurée) est inférieur au dénominateur (limite de détection), le Fac prend une valeur nulle (0). Cette étape permet de réduire la perte d'informations pour les bioessais moins sensibles de la batterie.

Pour les bioessais de type quantique, la détermination des FAC se fait comme suit :

- si le pourcentage de survie est supérieur à la limite de détection (L_{tox}), on attribue la valeur de 0 au FAC;
- si le pourcentage de survie est inférieur à la L_{tox} :

$$FAC = (L_{tox} - R_{tox}) \times \log(100 - R_{tox}) \quad (6)$$

L'expression des FAC sur une échelle logarithmique en base 10 (\log_{10}) permet de comparer, à une échelle réduite, des sédiments dont le degré de toxicité varie considérablement selon l'organisme utilisé.

3.5.2 Intégration des données

Cette étape mène à la détermination de l'indice. Afin de fournir plus d'information sur le potentiel toxique des sédiments, la contribution relative de chacune des phases d'exposition au potentiel toxique global (*i.e.*, score SED-TOX) est d'abord déterminée par le calcul de la moyenne pondérée de la toxicité phasique (WAPT), à partir des FAC, du nombre de paramètres d'effets faisant partie de la batterie (N), et des facteurs de sensibilité attribués aux phases d'exposition composant la batterie ($a - d$). Par défaut, toutes les phases ont un facteur de sensibilité de 1, à l'exception de l'extrait organique qui a un facteur de 0,1 en raison de sa plus grande sensibilité (*i.e.*, a, b , et $c = 1, d = 0,1$).

Ensuite, pour chaque échantillon de sédiments, on fait la somme des WAPT et cette dernière est divisée par le facteur de redondance de la phase, pour obtenir la moyenne cumulée de la toxicité phasique (CAPT) :

$$\text{CAPT} = \left(\frac{\text{WAPT}_{\text{EI}}}{a \frac{\sum \text{FAC}_{\text{EI}}}{N_{\text{EI}}}} + \frac{\text{WAPT}_{\text{SH}}}{b \frac{\sum \text{FAC}_{\text{SH}}}{N_{\text{SH}}}} + \frac{\text{WAPT}_{\text{SE}}}{c \frac{\sum \text{FAC}_{\text{SE}}}{N_{\text{SE}}}} + \frac{\text{WAPT}_{\text{EO}}}{d \frac{\sum \text{FAC}_{\text{EO}}}{N_{\text{EO}}}} \right) \quad (7)$$

r

Le facteur de redondance réfère à la composition de chacune des phases faisant partie de la batterie bioanalytique. Deux phases sont considérées redondantes si elles sont constituées de compartiments sédimentaires (Figure III.3) identiques. C'est le cas pour l'extrait organique et le sédiment entier, qui comprennent chacun les compartiments x, y et z . Le facteur r est calculé par la valeur cumulée des combinaisons qu'on retrouve dans chacune des phases. Ainsi, l'EO et le SE, prennent, dans le calcul de r , une valeur de 1, alors que l'EI qui ne comporte que la composante x a une valeur de 0,33, et le SH, qui contient les phases x et y , a une valeur de 0,66. Par exemple, dans le cas d'une batterie constituée de bioessais réalisés sur l'EI, la phase SH, l'EO et le SE, le facteur r équivaldrait à 3 (où $\text{EO} = 1, \text{SE} = 1$, et $\text{EI} + \text{SH} = 1$).

Tel qu'illustré par la formule du CAPT (7), l'intégration des données dans le calcul de l'indice SED-TOX combine deux méthodes : la somme et la moyenne des réponses toxiques. Intuitivement, plus le nombre de paramètres d'effet affectés est élevé, plus l'échantillon a le

potentiel de causer des dommages toxiques chez les organismes et populations exposés. Il est reconnu que cette façon de faire présente des biais. En effet, ces deux méthodes (somme et moyenne) transforment les chiffres élevés en chiffres faibles. En additionnant les réponses, par exemple, il peut arriver qu'un échantillon avec un score très élevé pour l'EO présente un indice similaire à un autre échantillon qui aurait affecté plus d'un paramètre d'effet mais de façon plus modérée. L'introduction de tels biais est inévitable lorsqu'on cherche à intégrer toutes les données d'une étude dans une seule valeur. Cela met en évidence les limites d'un indice tel que le SED-TOX et souligne l'importance de l'interprétation non seulement au niveau de l'indice global mais également à celui des résultats qui le composent.

Enfin, l'indice est calculé pour chaque échantillon de sédiment, à partir du CAPT et du nombre de phases sédimentaires ayant révélé une réponse toxique (n). Le facteur n peut varier entre zéro (0) (*i.e.*, réponses non toxiques dans toutes les phases sédimentaires) et quatre (*i.e.*, effets toxiques notés dans toutes les phases). L'indice SED-TOX se calcule comme suit :

$$SED-TOX = \log_{10} \left(\frac{[1 + n(CAPT)]}{\text{Empreinte toxique}} \right) \quad (8)$$

Le produit du facteur n et du CAPT s'appelle l' « empreinte toxique » (également appelée « toximesure »). L'inclusion du facteur 1 dans la formule sert à assurer que le SED-TOX prend une valeur de zéro (0) lorsque aucune toxicité n'est décelée dans les bioessais. Puisque l'indice SED-TOX est une expression en \log_{10} , un incrément de un (1) se traduit en une augmentation de l'empreinte toxique par un facteur de dix (10). Les empreintes toxiques peuvent être combinées pour calculer une charge toxique sectorielle pour un site ou un secteur.

Pour faciliter la comparaison des scores SED-TOX parmi un groupe de sites ou de secteurs, et rendre l'indice plus informatif pour les gestionnaires, une échelle discriminante est proposée. Les empreintes toxiques sont alors classées selon quatre catégories de potentiel

toxique: classe marginale : classe « sous la limite de détection », classe marginale: 1–9, classe modérée : 10–99, et classe élevée : > 99. Les classes « marginale » et « élevée » ont été définies à partir des résultats obtenus lors de l'application du SED-TOX à des sédiments marins (voir Chapitre V). Ces valeurs ont été déterminées en prenant, pour l'ensemble des bioessais composant la batterie, la plus petite et la plus grande valeur de toxicité mesurée pour chaque essai, en intégrant ces valeurs (minimales, dans le cas de la classe marginale, et maximales, dans le cas de la classe élevée) dans l'indice et en calculant l'empreinte toxique pour ces scénarios de toxicité minimale et maximale.

CHAPITRE QUATRE

MISE AU POINT D'UN ESSAI DE GÉNOTOXICITÉ SUR EXTRAITS ORGANIQUES DE SÉDIMENTS

La problématique des effets chroniques résultant d'actions chimiques sur le matériel génétique des organismes est de plus en plus considérée dans les évaluations de qualité des sédiments. Ces évaluations sont habituellement réalisées sur des matrices liquides. Pour diverses raisons (i.e., sensibilité, simplicité, résultats, paramètres d'effet, polyvalence et coût), seulement quelques essais ont reçu une attention particulière. Le SOS Chromotest (*E. coli* PQ37), le Mutatox⁴ (*V. fischeri* M169) et le test d'Ames-fluctuation (*Salmonella typhimurium* TA98 et TA100) sont parmi les plus utilisés en génotoxicologie environnementale.

Afin d'obtenir une matrice sédimentaire liquide compatible pour la réalisation des tests de génotoxicité, on peut faire appel à l'eau interstitielle, à des lixiviats, ou encore à des extraits organiques. Ces derniers sont généralement utilisés pour évaluer le potentiel toxique de contaminants tels que les HAP et les BPC, qui sont hydrophobes et généralement liés aux particules sédimentaires.

Pour l'obtention d'extraits, les sédiments sont *a priori* généralement soumis à des étapes d'extraction, de concentration et de fractionnement (ECF) à l'aide de solvant(s) organique(s) permettant de réduire la complexité de la matrice sédimentaire à des fractions chimiques distinctes. Celles-ci sont ensuite soumises aux bioessais et peuvent être ensuite soumises à l'analyse chimique dans le but d'en identifier les substances génotoxiques.

Plusieurs approches décrites dans la littérature ont fait appel au couplage de techniques ECF et d'un bioessai pour estimer le potentiel génotoxique de sédiments (White *et al.*, 1998a,b; Balch *et*

⁴ Mutatox est une marque de commerce de la compagnie Azur Environmental (Carlsbad, CA), reprise maintenant par SDI (Strategic Diagnostics Inc.)

al., 1995; Gagné *et al.*, 1995; Gagné et Blaise, 1995; Hoke *et al.*, 1994; Marvin *et al.*, 1994; Ho et Quinn, 1993; Fernández *et al.*, 1992; Grifoll *et al.*, 1992; Johnson, 1992a; Langevin *et al.*, 1992; Holoubek *et al.*, 1990; Grifoll *et al.*, 1990; Metcalfe *et al.*, 1990; West *et al.*, 1986). Cependant, aucune de ces approches n'a été validée au niveau de la variabilité intra-laboratoire des résultats. Leur adéquation pour une utilisation « routinière » n'a donc pas été démontrée. Dans un processus de validation, la variabilité inhérente à la méthode doit être évaluée et considérée lors de l'interprétation des résultats (ASTM, 1992). Cette variabilité peut résulter d'un certain nombre de facteurs (e.g., erreurs aléatoires inévitables, analyste, calibration de l'équipement, la température et la qualité du solvant). Par ailleurs, il peut y avoir un manque de contrôles, autant négatifs (i.e, relativement exempts de contaminants) que positifs (e.g., sédiments certifiés du Centre National de Recherche du Canada), pour relativiser le potentiel génotoxique de sédiments inconnus. La comparaison à des sédiments de référence est aussi requise pour l'interprétation des données. L'analyse de ces extrêmes (i.e, contrôles négatifs et contrôles positifs) permettrait, entre autres, de déterminer les conditions à partir desquelles les tests de dépistage de génotoxicité ne sont plus fiables (Cairns, 1988; Chapman, 1995) et d'évaluer l'efficacité des méthodes d'extraction pour les contaminants organiques de la matrice sédimentaire.

L'objectif de ce chapitre est de proposer une méthodologie simple et efficace pour estimer le potentiel génotoxique de sédiments à partir d'extraits organiques. Elle peut également être considérée dans le calcul de l'indice SED-TOX (voir Chapitres V et VI). Elle fait intervenir des techniques d'ECF qui permettent de séparer la matrice sédimentaire en trois fractions organiques : i) l'extrait brut ou non fractionné (désigné F_0), ii) la fraction renfermant les macromolécules de poids moléculaire supérieur à 800 unités de masse atomique ou uma (désignée F_1), et iii) la fraction contenant des molécules de poids variant entre 250 et 800 uma (désignée F_2).

Leur potentiel génotoxique est alors comparé à l'aide de trois bioessais de génotoxicité : a) le SOS Chromotest^{MC}, b) le Mutatox^{MC}, et c) le test Ames-fluctuation. Ceux-ci sont également comparés pour leur sensibilité, potentiel de discrimination et autres critères scientifiques et pratiques.

4.1 JUSTIFICATION DES MÉTHODES, SOLVANTS ET MATÉRIEL EMPLOYÉS POUR LA PRÉPARATION DES EXTRAITS ORGANIQUES

La méthodologie proposée pour extraire, concentrer et fractionner les extraits organiques de sédiments implique a) l'extraction en continu à l'aide d'un système Soxhlet et d'un solvant, le dichlorométhane (DCM); b) l'évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif et sous jet d'azote; et c) l'élution des substances organiques par chromatographie d'exclusion (filtration sur gel). Les extraits sont ensuite repris par le diméthyle sulfoxyde (DMSO), puis soumis aux tests de génotoxicité.

L'extraction utilisée apporte un certain nombre d'avantages présentés dans le manuscrit qui rapporte ces travaux (article intitulé *Evaluation of an SOS-Chromotest-based approach for the isolation and detection of sediment-associated genotoxins*, présenté à l'Annexe 4).

Les lipides et autres composés de poids moléculaire élevé (e.g., acides humiques et fulviques, chlorophylle) peuvent gêner la réponse des tests de génotoxicité. On les sépare des micropolluants (e.g., HAP et BPC) par chromatographie d'exclusion. La résine Bio-Beads® S-X3 (Laboratoires Bio-Rad, Mississauga, Ontario), composée de zéolites synthétiques et de polymères organiques, sert d'agent de séparation. La méthode utilisée est basée sur la procédure élaborée par l'Agence américaine de protection de l'environnement (US EPA, 1986). Pour chacun des extraits bruts (F₀), l'éluat de la colonne d'exclusion sur gel est recueilli en trois fractions (F₁, F₂ et F₃). Toutefois, seules les fractions F₁ et F₂ sont conservées pour la réalisation des bioessais. La fraction F₁ renferme des colloïdes et des substances de poids moléculaire élevé, comme des acides humiques et fulviques, des lipides et des hydrocarbures lourds, alors que la fraction F₂ renferme entre autres des micropolluants tels que des HAP, des BPC, des pesticides et des substances phénoliques. La fraction F₃ peut également contenir des micropolluants d'intérêt (e.g., HAP de faible poids moléculaire tels l'acénaphène, l'acénaphthylène, le fluorène, le phénanthrène, l'anthracène et des congénères de BPC ([BPC-1 à BPC-14]), mais contient le soufre élémentaire (S₈) qui est hautement toxique pour les bactéries *Vibrio fischeri* (Pardos *et al.*, 1999; Svenson *et al.*, 1996; Jacobs *et al.*, 1992), *Salmonella typhimurium* (TA98 et TA100 [Abe et Urano, 1996]) et *Escherichia coli* PQ37 (Laboratoire du Centre Saint-Laurent, données non publiées). Étant donné que le soufre élémentaire est communément retrouvé dans les sédiments

marins et lacustres, et qu'il interfère dans certains essais de toxicité, la fraction F₃ a été rejetée pour permettre une évaluation plus spécifique du potentiel génotoxique des contaminants organiques associés aux sédiments.

4.2 PRINCIPES DES TESTS DE GÉNOTOXICITÉ SÉLECTIONNÉS

Les lignes qui suivent résument les principes des trois essais de génotoxicité réalisés pour cette étude. Les méthodologies et le calcul des résultats sont décrits à l'Annexe 1.

Le SOS Chromotest a été brièvement décrit à la § 2.3.3 de cet ouvrage.

Un mutant « sombre » d'une bactérie marine luminescente (*Vibrio fischeri*) représente la pierre angulaire du test Mutatox. Le mutant sombre *V. fischeri* M169 émet très peu de lumière, de 10⁵ à 10⁶ fois moins que la souche sauvage (Bulich, 1992). Ce test mesure la génotoxicité via la capacité des contaminants à induire la mutation reverse qui réactive le système de régulation de la bactérie.

La souche *S. typhimurium* TA100 du test de fluctuation possède une mutation dans l'un des gènes de l'histidine (un acide aminé essentiel). Sous l'action de mutagènes ou de mutations inverses (en anglais, « reverse mutations »), les mutants auxotrophes (His⁻) recouvrent leur capacité à synthétiser l'histidine et retrouvent leur état prototrophe (His⁺) ou sauvage (Venitt *et al.*, 1984).

4.3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.3.1 Sélection et prélèvement des échantillons de sédiments

Cinq échantillons ont été soumis aux bioessais (Figure IV.1):

- BA-1, BA-2 et BA-3 : proviennent respectivement de trois sites de la baie des Anglais (Baie-Comeau, Québec, Canada); et,
- HS-2, HS-3 : sédiments de référence certifiés (SRC) fournis par le CNRC. Ils proviennent de zones portuaires de la Nouvelle-Écosse, soit le port de Cass (HS-2) et le port de Halifax (HS-3). Les SRC sont couramment utilisés comme standards pour la chimie analytique de sédiments marins.

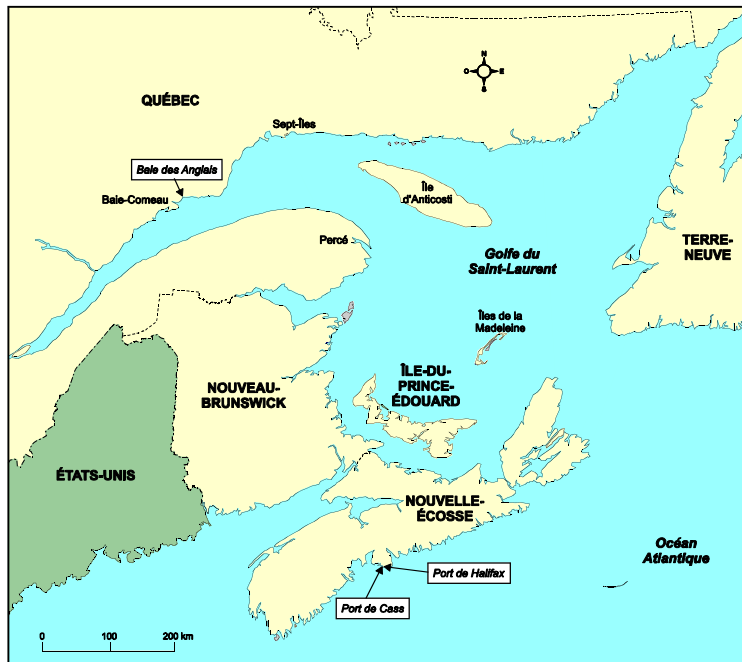


Figure IV.1 : Emplacement des sites d'échantillonnage pour les essais de génotoxicité

4.3.1.1 Sédiments de la baie des Anglais

La baie des Anglais, située sur la rive nord de l'estuaire du Saint-Laurent, à quelques kilomètres à l'est de Baie-Comeau (Québec), est reconnue d'intérêt en raison de la forte contamination de ses sédiments (IML, 1997). Des études antérieures y ont rapporté des teneurs élevées en HAP, en BPC, en dioxines et furannes, ainsi qu'en métaux lourds (Bertrand *et al.*, 1986; Laliberté, 1991; Brochu *et al.*, 1995).

Trois sites localisés le long d'un transect linéaire et perpendiculaire à la rive ouest de la baie des Anglais (Tableau IV.1) ont été sélectionnés en raison de leur caractérisation chimique et de leur toxicité connues, ainsi que du gradient de contamination organique (HAP et BPC) qu'ils présentent : le site BA-1 est le plus contaminé; les teneurs en HAP et BPC aux sites BA-2 et BA-3 sont de 10 à 100 fois inférieures, respectivement (Lee *et al.*, 1999).

Le prélèvement des échantillons a été effectué à l'aide d'une benne de type Van Veen. Ce type d'échantillonneur est recommandé par EC (1994) pour le prélèvement de gros volumes de

sédiments en milieu marin côtier d'eaux profondes, à forts courants et à substrat plutôt fin. La profondeur de pénétration de la benne était de 0-10 cm.

Les sédiments ont été conservés en bouteilles de polyéthylène préalablement traitées (lavées à l'acide et rincées à l'hexane). Tous les échantillons ont été congelés à -20 °C en attendant leur utilisation en laboratoire.

Tableau IV.1 : Localisation des sites de la baie des Anglais

Sites	Profondeur (m)	Longitude	Latitude
BA-1	34	49°15'05''	68°7'38''
BA-2	84	49°15'03''	68°6'41''
BA-3	101	49°14'95''	68°4'07''

Les teneurs en contaminants organiques des sédiments à l'étude sont fournies à l'Annexe 5.

4.3.1.2 Sédiments de référence certifiés pour les BPC - HS-2

Le HS-2 (mélange complexe de BPC) est un sédiment marin servant de standard pour la détermination des BPC. Sur la base d'un minimum de 32 extractions de sédiments, le standard du HS-2 est de $111,8 \pm 2,5$ µg BPC/kg de sédiments secs. Cette valeur est basée sur l'analyse des 10 congénères suivants : BPC-101, BPC-138, BPC-151, BPC-153, BPC-170, BPC-180, BPC-194, BPC-196, BPC-199 et BPC-209.

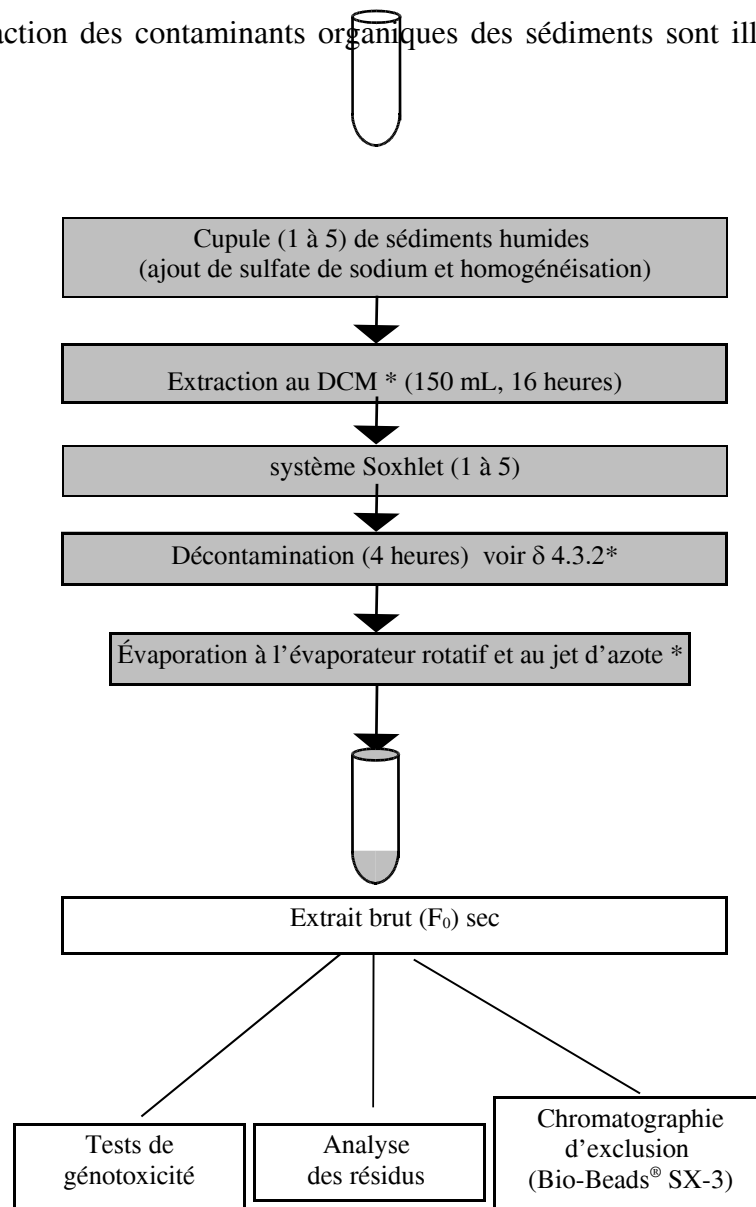
4.3.1.3 Sédiments de référence certifiés pour les HAP - HS-3

Le HS-3 (mélange complexe de HAP) est un sédiment marin servant de standard pour la détermination des HAP. Le standard défini pour le HS-3 est de 283,3 µg de HAP totaux/g sédiments secs, répartis en composés de poids moléculaire faible (126 µg/g) et de poids moléculaire relativement plus élevé (157,3 µg/g).

4.3.2 Extraction organique, concentration et fractionnement

La procédure élaborée ici se résume en trois étapes principales i) extraction au Soxhlet; ii) concentration de l'extrait; et iii) fractionnement par filtration sur gel. Avant de procéder aux

extractions avec le DCM, des mesures ont été prises afin de prévenir toute contamination possible des échantillons. La verrerie a été nettoyée à l'acétone et à l'hexane de qualité « Pesticides », puis séchée au four à 340°C pendant 2 heures et recouverte de papier aluminium préalablement rincé à l'acétone et à l'hexane et séché au four. De plus, une cupule de cellulose vide a été ajoutée au tube extracteur et le système Soxhlet a été préalablement décontaminé avec 150 mL de DCM pendant 4 heures à un rythme de percolation de 3 à 4 cycles/heure. Finalement, tout le matériel et la verrerie utilisés avant, pendant et après l'extraction ont été rincés trois fois au DCM. Les étapes suivies pour l'extraction des contaminants organiques des sédiments sont illustrées à la Figure IV.2.



* Procédure opératoire normalisée # LO-CON-960331. EC, 1995.

Figure IV.2 : Extraction, concentration et fractionnement des substances organiques de sédiments

Des quantités de 30 g (sédiments lyophilisés HS-2 et HS-3) et de 50 g (sédiments de la baie des Anglais) ont été réparties en portions de 10 g dans les systèmes Soxhlet. De plus, des blancs d'extraction ont été utilisés dans le but de quantifier le niveau de contamination provenant du laboratoire lors de la manipulation des échantillons ou de leur analyse et afin de servir d'échantillons témoins pour les tests de génotoxicité. Les blancs d'extraction (constitués uniquement de DCM) ont été traités selon la même procédure que les sédiments.

Chaque portion a été recouverte de 20 g de sulfate de sodium, puis recouverte d'un tampon de laine de verre. L'extraction au DCM (150 mL) a duré 16 heures, à un rythme de percolation de 3 à 4 cycles/heure. Les extraits de sédiments ont été concentrés sous évaporateur rotatif et récupérés dans une fiole jaugée de 50 mL. Le contenu de la fiole (qui correspondait à une concentration de sédiments de 1 g humide.mL⁻¹ pour les échantillons de la baie des Anglais et de 0,6 g sec.mL⁻¹ pour les échantillons de HS-2 et HS-3) a ensuite été réparti en portions destinées aux analyses, à savoir 5 mL pour la réalisation des bioessais, 10 mL pour le dosage des métaux, 30 mL pour la chromatographie d'exclusion et 5 mL pour l'analyse des résidus.

Le fractionnement des extraits bruts (F₀) a été effectué par chromatographie d'exclusion moléculaire selon la procédure établie par la US EPA (1986). Un système de chromatographie liquide à haute performance a servi pour la chromatographie d'exclusion. La colonne (1 cm x 57 cm) a été préparée avec une résine de type *Bio-Beads*[®] S-X3.

Une quantité de 10 g de résine a été mélangée à 50 mL de DCM et mise de côté approximativement 16 h pour la laisser gonfler. Cette résine a d'abord été transférée dans une colonne de 1 cm de diamètre interne et comprimée à 47 cm. La résine de la colonne a ensuite été traitée au DCM pendant 4 heures, à un débit de 1 mL/min, afin d'en enlever l'air y étant emprisonné. L'extrait brut de sédiments (F₀) a été injecté sur la colonne par un échantillonneur automatique (1,0 mL destiné à la réalisation des bioessais et 0,5 mL réservé pour le dosage des métaux). L'éluat de la colonne de chromatographie d'exclusion était acheminé vers un détecteur

UV/VIS ajusté à une longueur d'onde de 254 nm, et de là vers un collecteur de fractions, ce qui a permis d'identifier les fractions en fonction de leur volume d'élution.

Le collecteur de fractions a été programmé de manière à récupérer les deux premières fractions (F_1 et F_2) selon des plages de rétention délimitées de la façon suivante : F_1 (solutés de masse > 800 uma) entre 10 et 18 minutes; F_2 (solutés de masse 250-800 uma) entre 18 et 35 minutes. Le volume mort correspondait aux dix premières minutes de l'élution et l'éluat des minutes 35 à 50, à de « petites » molécules comme le soufre⁵ (F_3 : < 250 g.mol⁻¹); ces fractions ont été rejetées. Une fois les fractions F_1 et F_2 récupérées, elles ont été concentrées sous jet d'azote jusqu'à un volume variant entre 10 et 20 mL tout en évitant la formation d'un précipité. La correspondance entre le temps de rétention des composés d'intérêt et leur poids moléculaire a été validée en injectant à quelques reprises 1 mL d'un mélange d'un échantillon enrichi. Cet échantillon contenait une quantité connue de substances étalons, à savoir : 4 mg/L d'huile végétale; 0,20 mg/L de dioctylphtalate; 0,02 mg/L de pérylène; et 0,05 mg/L de soufre. Les fractions (F_0 , F_1 et F_2) ont été conservées dans le DCM dans des tubes de verre entreposés à 4 °C jusqu'à l'exécution des tests de génotoxicité.

4.3.3 Bioessais

4.3.3.1 Préparation des extraits

Les extraits bruts (F_0) conservés dans le DCM (1g/mL ou 0,6 g/mL, selon le cas) ont été évaporés à sec sous jet d'azote. Un volume de 1 mL de DMSO (Fisher™) a été ajouté à chacun des tubes de verre contenant les résidus d'extraction. Afin de favoriser la dissolution des résidus, les tubes ont été agités au Vortex™ et placés dans un bain à ultrasons pendant 2 min (Branson™, modèle 8200). Afin de limiter les interférences possibles lors des lectures, seules les fractions solubles dans le DMSO ont été soumises aux tests de génotoxicité. À cette fin, les tubes ont été centrifugés pendant 10 min à 700 g (2000 rpm sur Varifuge™, modèle RF avec rotor 2190), puis les surnageants ont été transférés dans des microtubes en polypropylène de 1,5 mL à l'aide d'une pipette Pasteur. Les extraits ont été testés la journée même ou au plus tard 48 h après le changement de solvant. Dans ce dernier cas, les microtubes étaient entreposés à 4 °C jusqu'au moment des analyses.

⁵ Soufre élémentaire, S₈.

4.3.3.2 Gammes de concentrations testées

Le Tableau IV.2 présente les gammes de concentrations préparées pour chacun des extraits, alors que le Tableau IV.3 indique le nombre d'échantillons et de réplicats pour chaque type d'extrait et chaque test de génotoxicité.

Tableau IV.2 : Concentrations en extraits organiques non fractionnés (F₀) utilisées pour le SOS Chromotest

N° concentration	Volume d'extrait (µL.mL ⁻¹)	Concentration (mg-équivalents de sédiments secs par mL)				
		HS-2	HS-3	BA-1	BA-2	BA-3
1	10,00	61,0	59,0	79,0	87,0	95,0
2	5,00	30,5	29,5	39,5	43,5	47,5
3	2,50	15,3	14,8	19,8	21,8	23,8
4	1,25	7,6	7,4	9,9	10,9	11,9
5	0,63	3,8	3,7	4,9	5,4	5,9
6	0,31	1,9	1,8	2,5	2,7	3,0
7	0,16	1,0	0,9	1,2	1,4	1,5
8	0,08	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7
9	0,04	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4

Tableau IV.3 : Nombre de réplicats et gammes de concentrations utilisés selon le type de bioessai

Tests	Réplicats par échantillon	Concentration (n ^{os} *)
SOS Chromotest	4 (4) **	Avec et sans activation métabolique : 1 à 9 pour toutes les fractions (F ₀ , F ₁ et F ₂)
Mutatox	3 (5) **	Avec et sans activation métabolique : 1 à 5 pour toutes les F ₀ 1 à 7 pour toutes les F ₀ de HS-3 1 à 8 pour toutes les F ₀ des échantillons BA-1, BA-2 et BA-3
Test de fluctuation	1 (3) **	3 à 7 pour toutes les F ₀ sans activation métabolique 1 à 5 pour toutes les F ₀ avec activation métabolique 2 à 8 pour toutes les F ₀ avec et sans activation métabolique

* Voir tableau IV.2.

** Entre parenthèses, témoin négatif.

Les essais SOS Chromotest ont été effectués en microplaques de 96 puits selon la procédure mise au point au laboratoire du CSL (EC, 1997a). On peut référer à l'Annexe 1 pour de plus amples détails méthodologiques.

Les essais Mutatox ont été réalisés selon les directives générales de la compagnie Azur Environmental. Ce protocole a cependant été modifié de façon à le réaliser en microplaques de 96 puits (EC, 1998) plutôt que dans des tubes de verres. Les tests ont été initiés dans des microplaques transparentes afin de pouvoir mesurer la densité cellulaire à 600 nm et ainsi déterminer la toxicité des extraits. Le nombre de concentrations testées pour le Mutatox a varié entre cinq et huit (Tableau IV.2) mais, dans tous les cas, la plus forte concentration représentait une dilution de 1:100 de l'extrait.

Le test de fluctuation a été réalisé selon la méthode de Hubbard *et al.* (1984) adaptée au laboratoire du CSL (EC, 1997b).

4.3.3.3 Critères de comparaison des bioessais

Les fractions d'extraits et les tests de génotoxicité ont été comparés à partir des critères suivants : a) pouvoir de discrimination, b) sensibilité, c) concordance, et d) considérations scientifiques, techniques et pratiques. Le pouvoir de discrimination est défini comme étant la capacité à distinguer les niveaux de contamination des échantillons de sédiments. Cette capacité a été évaluée en comparant les réponses génotoxiques mesurées aux concentrations de HAP totaux, retrouvées dans les sédiments. Le choix des HAP se justifie comme suit : i) mis à part l'échantillon HS-2, les teneurs en HAP des sédiments à l'étude sont connues, ii) on retrouve les HAP à divers degrés dans les sédiments examinés, et iii) certains HAP sont reconnus pour leur potentiel génotoxique.

En revanche, la faculté de déceler une plus large gamme de contaminants ou encore à dépister de faibles concentrations de contaminants témoigne de la sensibilité. La sensibilité des tests de génotoxicité en fonction des fractions a été évaluée en comparant le nombre de réponses positives (génotoxiques) générées par chacun d'eux.

Le critère de concordance a été évalué en examinant le degré d'accord entre les réponses positives et négatives qu'ont produit chacune des fractions et chacun des tests. Cet exercice permet d'évaluer de manière indirecte la redondance entre les diverses fractions et les tests de génotoxicité.

Enfin, les facteurs suivants ont servi à juger de la simplicité des méthodes: leur niveau de complexité; le temps requis pour réaliser un test et obtenir une réponse; la quantité de matériel et de réactifs biologiques et chimiques devant être disponibles pour effectuer un test. Les coûts associés à la réalisation des tests de génotoxicité ont été déterminés sur la base d'un échantillon et pour un lot optimal d'échantillons, correspondant au nombre d'échantillons pouvant être analysée dans une journée normale de travail (8 h). Ces coûts comprennent le matériel et la main-d'œuvre mais excluent la préparation des extraits. Les investissements en capital (achat d'appareils et d'instruments) nécessaires à la réalisation de chacun des tests de génotoxicité selon les protocoles adoptés dans cette étude ont aussi été estimés pour les laboratoires éventuellement intéressés par leur utilisation. À cette fin, les principaux avantages et inconvénients de ces tests sont davantage détaillés dans le chapitre qui suit.

4.4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.4.1 Toxicité, génotoxicité et mutagénicité des extraits

Trois fractions organiques (F_0 , F_1 et F_2) ont été préparées pour les deux blancs d'extraction et chacun des cinq échantillons de sédiments, totalisant 21 extraits. Chaque extrait a été analysé avec ou sans S9, à l'aide du SOS Chromotest, du Mutatox et du test de fluctuation, générant 126 courbes de concentration-réponse.

4.4.1.1 Blancs d'extraction

Les blancs d'extraction se sont avérés non génotoxiques autant pour *E. coli* PQ37 que pour la souche T100 de *S. typhimurium*, contrairement à *V. fischeri* M169 qui leur a conféré une réponse mutagène (données non présentées). Dans les deux cas, les niveaux de bioluminescence étaient relativement élevés (jusqu'à 32 fois ceux des témoins). Ces résultats pourraient s'expliquer comme suit : a) le Mutatox est sensible au DMSO, même à des concentrations aussi faibles que 1

% v.v⁻¹; et/ou b) l'évaporation sous jet d'azote n'a pas complètement éliminé le DCM dans les échantillons et le Mutatox réagit positivement à de très faibles concentrations de DCM. Nous avons d'ailleurs étudié l'influence du DMSO et du DCM sur la réponse du mutant *V. fischeri* M169 en réalisant l'essai Mutatox sur une série de dilutions de DCM dans le DMSO (0,1-1,1 $\mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$) et de DMSO (0,1-1,0 % v.v⁻¹). Les résultats sont présentés à la Figure IV.3. Des inductions d'activité lumineuse supérieures à celles des témoins (FI ≥ 2) ont été mesurées avec le DCM en présence d'activation métabolique, alors qu'aucune génotoxicité n'a été observée avant activation. Le phénomène inverse a été noté avec le DMSO. Ces résultats suggèrent que le Mutatox est trop sensible pour permettre une évaluation adéquate de la génotoxicité d'extraits de sédiments, bien que, selon la littérature, le DMSO ne soit pas reconnu génotoxique pour la bactérie *V. fischeri* M169 (Arfsten *et al.*, 1994). Le DCM est reconnu comme étant mutagène pour *S. typhimurium* (Jongen *et al.*, 1978), mais aucune information n'existe sur son potentiel génotoxique chez *V. fischeri* M169.

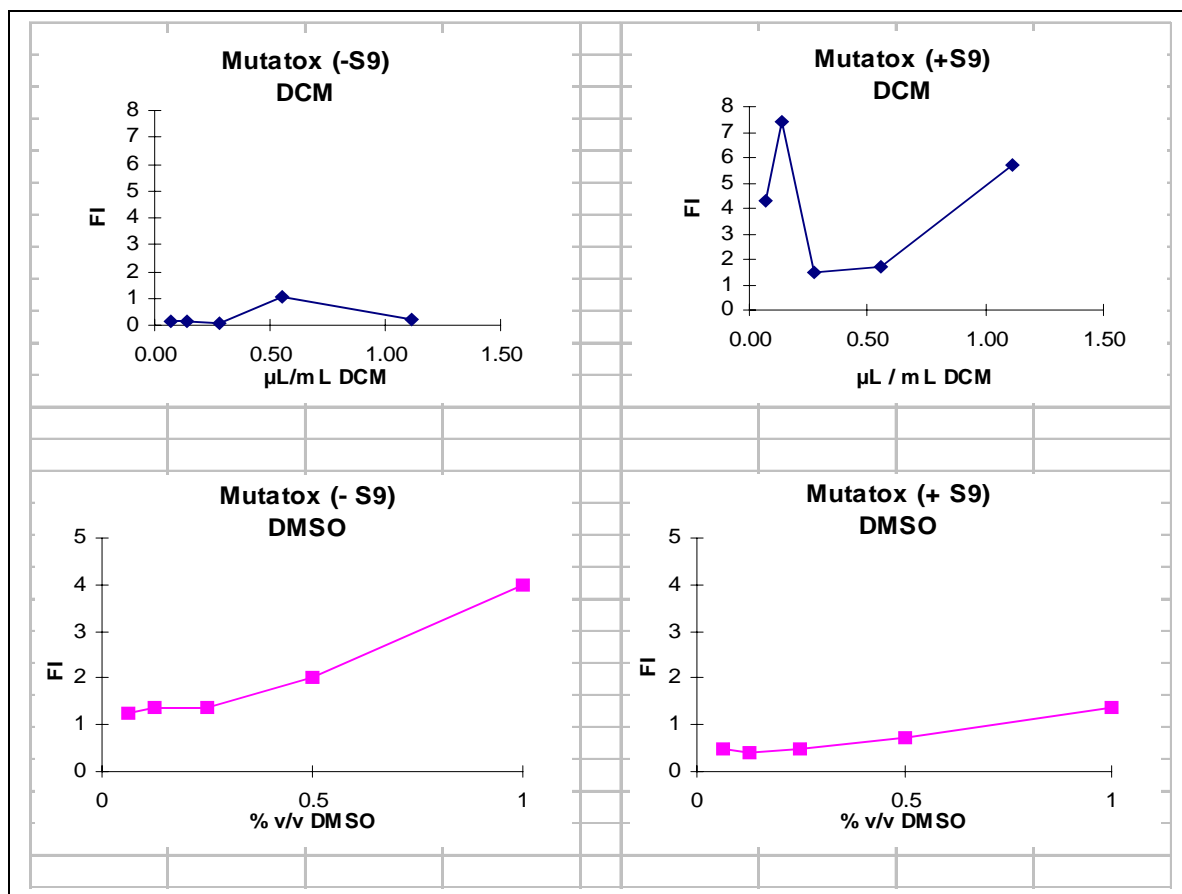


Figure IV.3 : Réponses génotoxiques mesurées chez *V. fischeri* à de faibles concentrations de DCM et de DMSO

4.4.1.2 Comparaison des fractions des extraits organiques de sédiments

L'analyse des réponses des tests de génotoxicité effectués sur différentes fractions organiques témoigne de résultats qui diffèrent selon les essais (Tableau IV.4).

Tableau IV.4 : Réponses des tests de génotoxicité selon la nature de la fraction organique

Échantillon	Fraction	Sans activation métabolique			Avec activation métabolique		
		SOS Chromotest	Mutatox	Test de fluctuation	SOS Chromotest	Mutatox	Test de fluctuation
HS-2	F ₀	-	-	-	+	-	+
	F ₁	-	+	+	-	-	+
	F ₂	+	+	+	+	-	+
HS-3	F ₀	-	+	-	+	+	+
	F ₁	-	+	-	-	+	+
	F ₂	+	+	-	+	+	+
BA-1	F ₀	+	+	-	+	+	?
	F ₁	-	+	-	-	+	+
	F ₂	+	+	+	+	+	+
BA-2	F ₀	-	?	-	+	?	+
	F ₁	-	-	-	-	+	-
	F ₂	+	-	+	+	+	+
BA-3	F ₀	-	-	+	-	+	-
	F ₁	-	+	-	-	+	+
	F ₂	-	?	+	-	+	+

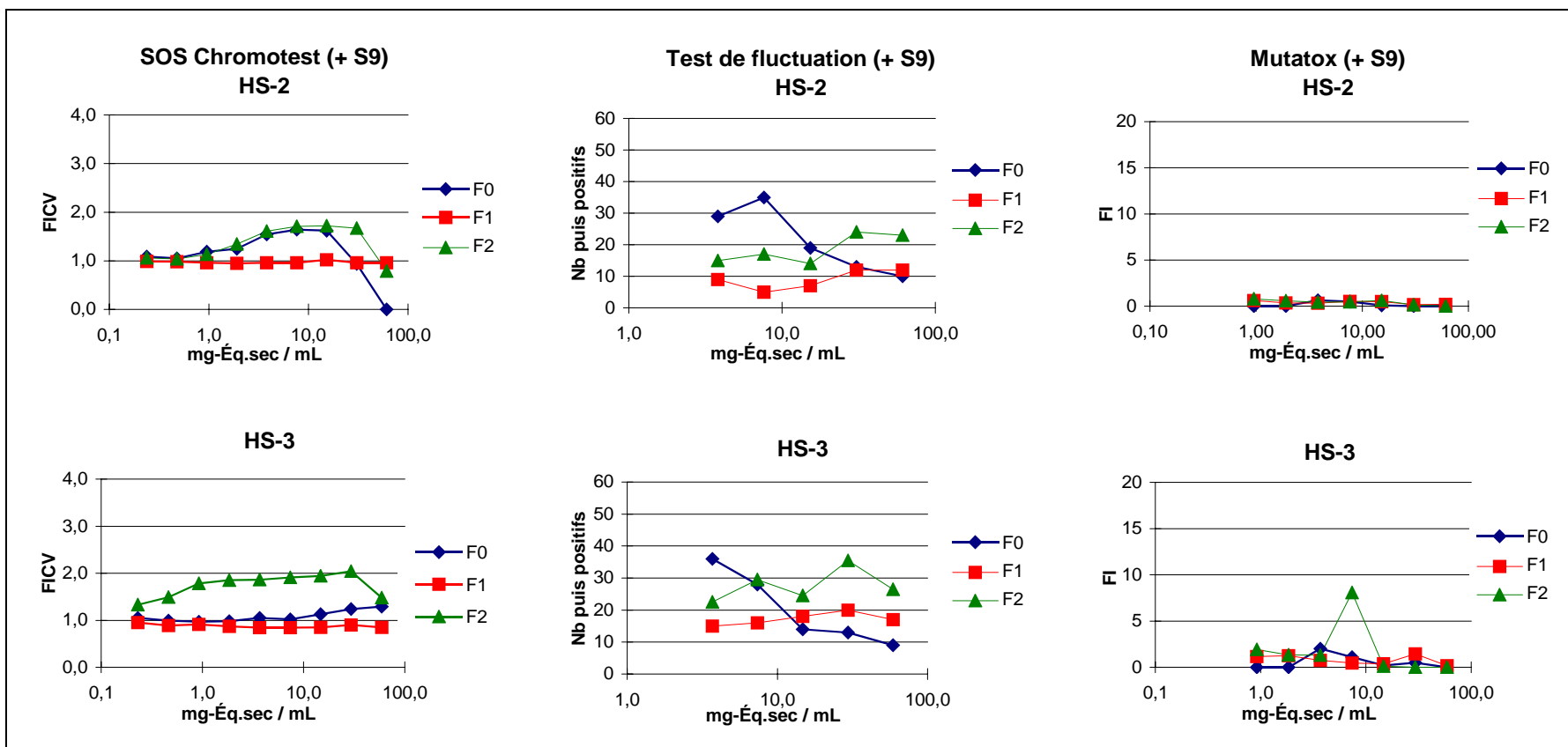
Remarque. - + : réponse génotoxique positive; - : réponse génotoxique négative; ? : réponse génotoxique équivoque.

Le SOS Chromotest n'a montré aucune induction de β -gal avec la fraction F₁ mais a indiqué la présence d'agents génotoxiques dans l'extrait non fractionné (F₀) et la fraction F₂ des échantillons à l'étude. En revanche, le test de fluctuation et le Mutatox ont généré des réponses génotoxiques avec la fraction F₁, en plus de celles notées avec la F₀ et la F₂. Bien que le pourcentage de réponses positives avec la fraction F₁ soit relativement faible [40 % (12/30) comparativement à 60 % (18/30) et 80 % (24/30) avec les fractions F₀ et F₂, respectivement (Tableau IV.4)], ces résultats surprennent compte tenu que les macromolécules isolées dans cette fraction ne sont pas reconnues dommageables à l'ADN. Au contraire, elles ont généralement un effet de masquage

sur l'activité génotoxique des micropolluants (Holoubek *et al.*, 1990; Ho *et al.*, 1994). Par ailleurs, la membrane externe des bactéries est peu perméable aux solutés de poids moléculaire supérieur à 700 unités de masse atomique (uma, voir revue de Nikaido et Vaara, 1985), ce qui correspond approximativement à la limite d'exclusion de la fraction F₁. Elle n'est donc pas appropriée pour l'évaluation de la génotoxicité de sédiments contaminés.

En revanche, l'activité génotoxique de la F₂ s'est généralement avérée supérieure à celle de la F₀ et de la F₁ pour tous les tests (résultats non illustrés). Ce constat apparaît logique car cette fraction comporte la majorité des contaminants anthropiques présents dans les sédiments, dont plusieurs sont reconnus génotoxiques ou mutagènes. Le taux plus faible de réponses positives avec la fraction F₀ supporte l'hypothèse d'interactions antagonistes ou de masquage par des substances non génotoxiques de poids moléculaire plus élevé dans les extraits bruts. Cette hypothèse a déjà été proposée par d'autres auteurs (Grifoll *et al.*, 1990; West *et al.*, 1986). Par ailleurs, une analyse des résultats bruts révèle, de façon générale, que la génotoxicité notée en présence de S9 avec les extraits non fractionnés (F₀) s'expliquait entièrement par les substances présentes dans la fraction F₂. Ce phénomène était particulièrement évident pour les échantillons fortement contaminés par des HAP (échantillons HS-3 et BA-1). Ainsi, dans tous les cas où un effet a été détecté chez *E. coli* PQ37 et *S. typhimurium* avec la fraction F₀ de ces deux échantillons, une réponse positive a aussi été obtenue avec F₂. De plus, une comparaison basée sur différentes dilutions de ces deux fractions indique que l'intensité de l'activité mesurée avec F₂ était généralement équivalente ou supérieure à celle observée avec F₀. Pour le Mutatox, la contribution des molécules de poids intermédiaire (F₂) à la génotoxicité de l'extrait brut était moins évidente pour le HS-3 en raison de la toxicité observée avec la fraction F₂ à partir de la dilution de 3,7 mg-Éq.sec.mL⁻¹ (données non illustrées). La baisse subite de la luminescence à partir de la dilution de 4,9 mg-Éq.sec.mL⁻¹ de l'échantillon BA-1 (F₂) en l'absence de S9 est attribuable à un effet toxique agissant sur la croissance des bactéries. La toxicité a donc une influence importante sur les lectures de luminescence pour le Mutatox.

La contribution de la fraction F₂ à la génotoxicité notée avec l'extrait non fractionné des échantillons est graphiquement perçue à la Figure IV.4 (a et b). Cette contribution n'est notable qu'avec le SOS Chromotest, et particulièrement avec les sédiments HS-3 et BA-1.



Remarque. - les échelles varient selon le test. Les critères de détection sont les suivants. SOS Chromotest : $FICV \geq 1,2$; Mutatox : $FI \geq 2,0$;
 Test de fluctuation : nombre de puits positifs (maximum de 96) \geq valeur critique de la table de Gilbert. (1980).
 FI : Facteur d'induction; FICV : Facteur d'induction corrigé pour la viabilité.

Figure IV.4a : Génotoxicité de sédiments de référence certifiés (HS-2 et HS-3)

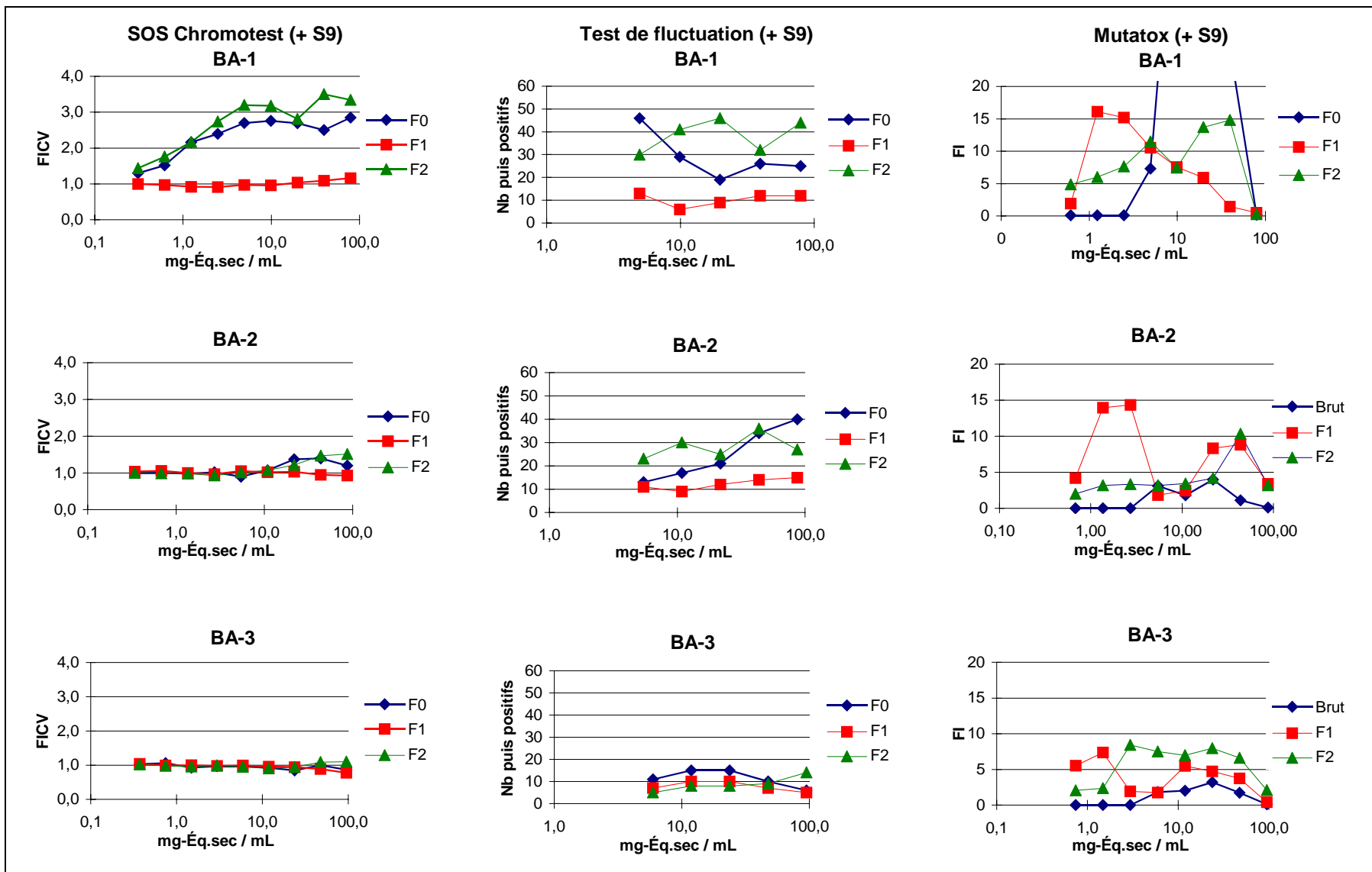


Figure IV.4b : Génotoxicité de sédiments prélevés à trois sites de la baie des Anglais (BA-1, BA-2 et BA-3)

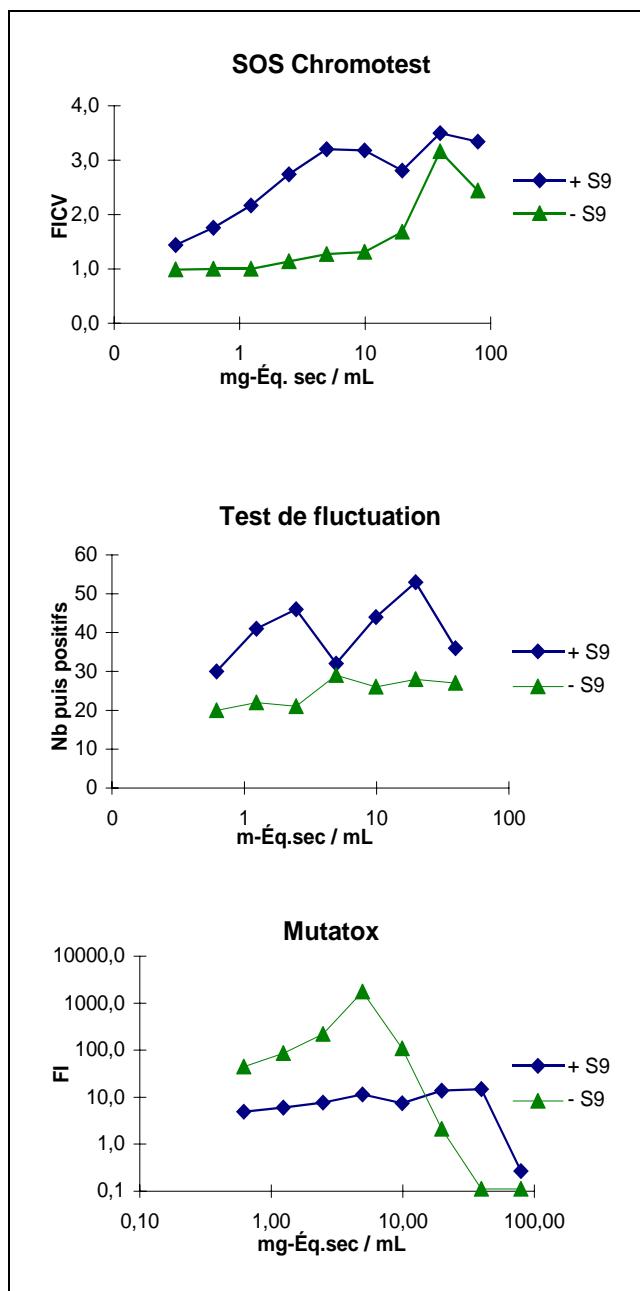
Mis à part l'échantillon BA-3, qui était faiblement contaminé par des HAP⁶, les réponses de la fraction F₂ sont généralement supérieures à celles obtenues avec les extraits non fractionnés des échantillons. Ces résultats indiquent que la bactérie *E. coli* PQ37 est particulièrement sensible aux micropolluants isolés dans la fraction F₂ des extraits organiques de sédiments.

4.4.1.3 Influence du S9

La Figure IV.5 illustre les courbes de concentration-réponse de la fraction F₂ de l'échantillon BA-1 analysée en présence et en l'absence de S9 dans les trois tests; l'allure des courbes est représentative des résultats obtenus avec la fraction F₂ des autres échantillons. De façon générale, l'activation métabolique a augmenté le potentiel génotoxique des extraits organiques de sédiments chez *E. coli* PQ37 et *S. typhimurium*. D'autres auteurs ont également noté que des extraits de sédiments nécessitaient une activation métabolique pour exercer des effets génotoxiques chez *S. typhimurium* et *E. coli* PQ37 (White *et al.*, 1998a; Balch *et al.*, 1995). A l'exception de Samoiloff *et al.* (1983) et Oishi et Takahashi (1987), peu d'études ont rapporté la présence d'agents génotoxiques à action directe chez *E. coli* PQ37 et *S. typhimurium* dans des extraits organiques de sédiments.

Les extraits qui ont montré un potentiel de génotoxicité supérieur avec S9 dans le test de fluctuation et le SOS Chromotest étaient fortement contaminés par des HAP. En effet, les échantillons HS-3 et BA-1 comportaient respectivement plus de 0,88 et 1,16 nmol.mL⁻¹ de B(a)P, soit des teneurs cinq à huit fois plus élevées que la CMEO calculée au laboratoire du CSL avec le SOS Chromotest. Aucune CMEO n'est disponible pour cette substance avec le test de fluctuation. Le potentiel génotoxique des extraits organiques a diminué après ajout de S9 en ce qui a trait au test Mutatox. Cette baisse peut être attribuable à des interférences physiques des protéines du S9 avec l'activité des substances à action indirecte, tel qu'avancé par Courtois *et al.* (1992).

⁶ En effet, la plus forte dilution testée pour l'échantillon BA-3 comportait une concentration de B(a)P bien inférieure (d'un facteur de 30) à la CMEO calculée au laboratoire du CSL (0,15 nmol.mL⁻¹).



Remarque. - Résultats typiques obtenus avec la fraction F₂ de l'échantillon BA-1.
 FI : Facteur d'induction; FICV : Facteur d'induction corrigé pour la viabilité.

Figure IV.5 : Influence du S9 sur le potentiel génotoxique des extraits organiques

4.4.1.4 Potentiel de discrimination des tests de génotoxicité

La distribution spatiale de la génotoxicité des sédiments de la baie des Anglais est présentée à la Figure IV.6.

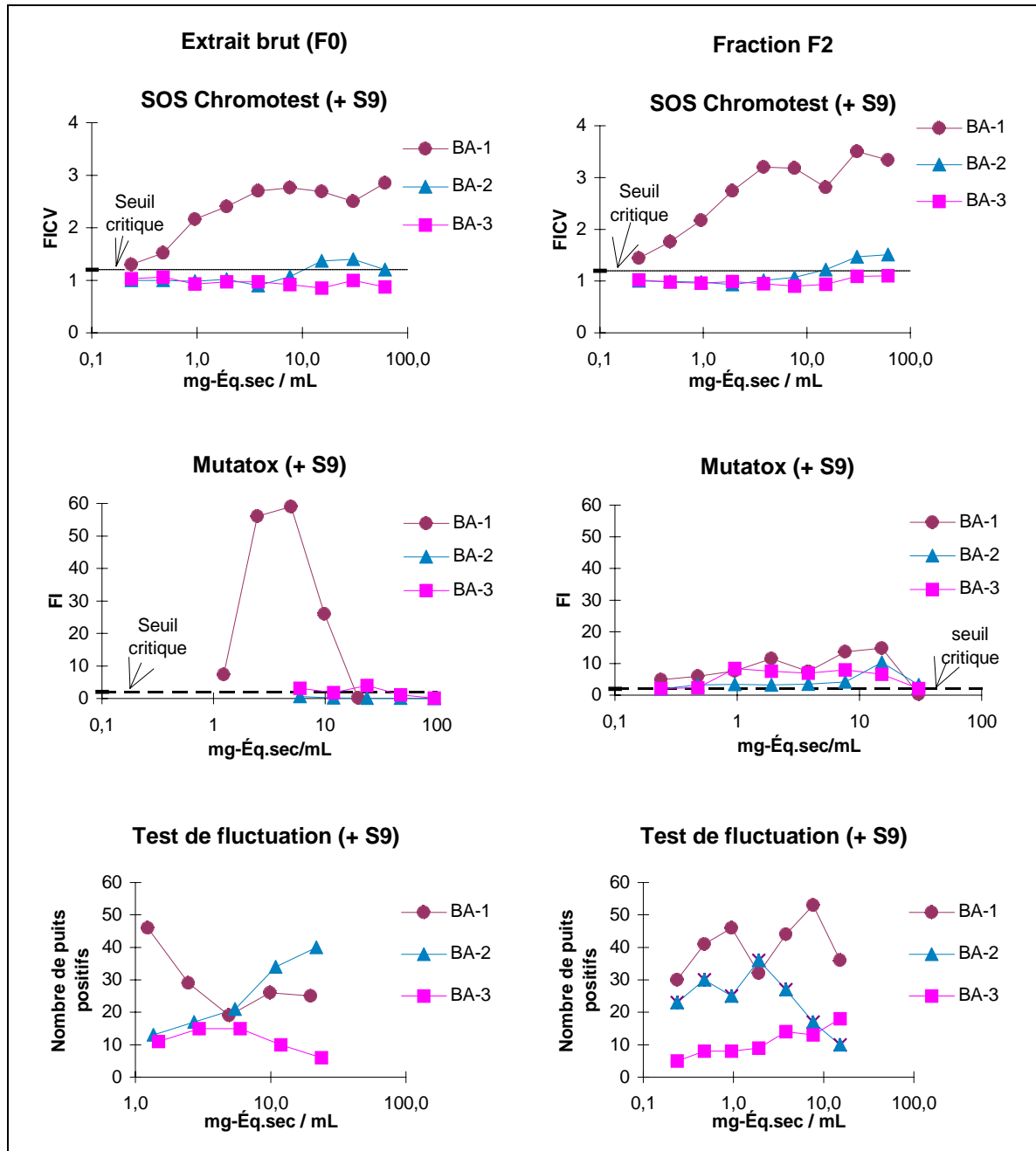


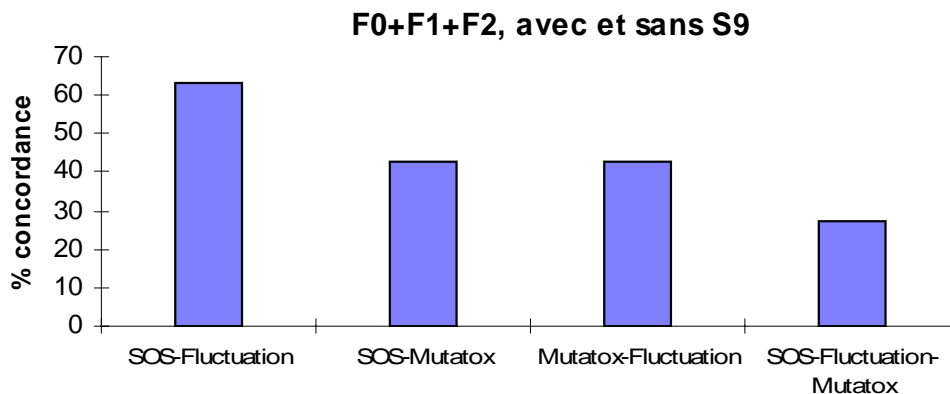
Figure IV.6 : Distribution spatiale de la génotoxicité des extraits de sédiments de la baie des Anglais

Des trois tests, le SOS Chromotest s'avère le meilleur à discriminer la génotoxicité des trois échantillons de sédiments de la baie des Anglais. En effet, que ce soit avec l'extrait non fractionné ou la fraction F₂, l'échantillon BA-1 montre de plus fortes inductions de β -gal et ce, à toutes les concentrations analysées. Aucune activité génotoxique n'a été observée avec les extraits de l'échantillon BA-3. Les pentes des portions linéaires des courbes de concentration-réponse pour les échantillons BA-1 et BA-2 démontrent clairement un gradient de génotoxicité de la fraction F₂ conforme aux niveaux de contamination en HAP des sédiments. Une comparaison statistique des courbes à l'aide de contrastes révèle une différence significative entre les extraits BA-1 et BA-2 ($p < 0,0001$).

4.4.1.5 Concordance des tests de génotoxicité

La Figure IV.7a et b présente les pourcentages de concordance (% de réponses identiques, négatives ou positives, obtenues dans les différents essais) entre les trois tests de génotoxicité réalisés sur les extraits organiques des cinq échantillons de sédiments. Lorsque les réponses des trois fractions et des essais réalisés en l'absence et en présence de S9 sont regroupées, la concordance entre le SOS Chromotest et le test de fluctuation est de 63 %, celle entre le SOS Chromotest et le Mutatox de 43%, celle entre le Mutatox et le test de fluctuation de 43% et celle entre les trois tests n'est que de 27 %.

a.



b.

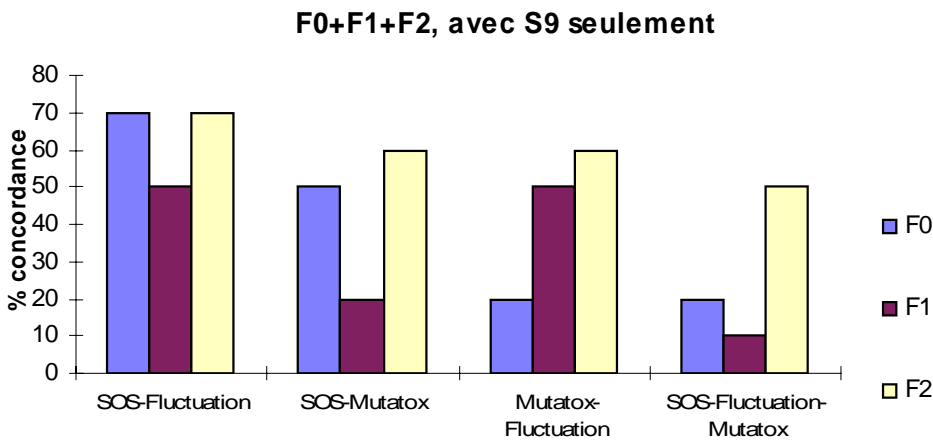


Figure IV.7 : Pourcentage de concordance entre les tests de génotoxicité

D'autres études ont porté sur la comparaison de tests de génotoxicité réalisés sur des extraits organiques. Des pourcentages de concordance (avec S9) variant de 50 à 100 % ont été rapportés entre le Mutatox et le test d'Ames (souche TA100) (Jarvis *et al.*, 1996; Hoke *et al.* 1994). Toutefois, aucune étude ne semble avoir porté sur la comparaison du SOS Chromotest avec le test de fluctuation (TA100) pour évaluer la génotoxicité d'extraits organiques de sédiments. Par contre, une étude réalisée par McDaniels *et al.* (1993) sur des sols contaminés a révélé une excellente concordance (environ 90 %) entre *E. coli* PQ37 et la souche TA98 de *S. typhimurium*.

L'analyse de concordance pour chacune des fractions révèle que, de façon générale, les pourcentages de concordance les plus élevés entre les trois tests ont été obtenus avec la fraction F₂ (Figure IV.7b). Des pourcentages de concordance de 70, 60 et 60 % ont respectivement été obtenus avec la fraction F₂ pour les comparaisons suivantes : SOS Chromotest-test de fluctuation, SOS Chromotest-Mutatox et test de fluctuation-Mutatox.

La plus forte concordance affichée par les réponses obtenues avec la fraction F₂ des échantillons pourrait signifier que les trois tests de génotoxicité réagissent aux mêmes substances, incluant des HAP. En effet, ces composés se trouvent principalement dans la fraction F₂ et ont souvent été

tenus responsables de la majeure partie de l'activité génotoxique de sédiments contaminés (Jarvis *et al.*, 1996; Hoke *et al.*, 1994; Fernandez *et al.*, 1992; Johnson, 1992b; Sato *et al.*, 1983).

4.4.2 Considérations scientifiques et pratiques

Le Tableau IV.5 présente une évaluation comparative basée sur des considérations scientifiques, techniques et pratiques pour les trois tests de génotoxicité utilisés dans cette étude. Pour chaque critère retenu, un rang (1, 2 ou 3) a été accordé de façon arbitraire à chaque test. Le test ayant obtenu la note globale la plus faible est jugé le plus avantageux. L'évaluation a été effectuée à partir de l'expérience acquise dans nos laboratoires avec ces mêmes tests et à partir d'éléments d'information tirés de la littérature (*e.g.*, Côté *et al.*, 1998a).

Tableau IV.5 : Évaluation comparative du SOS Chromotest, du Mutatox et du test de fluctuation en fonction de considérations scientifiques, techniques et pratiques*

Critère	Ordre de classement		
	SOS Chromotest	Mutatox	Test de fluctuation
Reconnaissance par la communauté scientifique	1	3	1
Simplicité des protocoles	1	1	3
Stérilité (échantillons et matériel)	1	1	3
Interférence de la toxicité sur la génotoxicité	1	1	2
Nombre d'échantillons testés par jour	2	1	2
Reproductibilité	1	3	?
Temps de réponse	1	2	3
Quantité et disponibilité de matériel et de réactifs	2	1	3
Appareils et équipements (quantité et coût)	2	3	1
Traitement des données (complexité)	2	2	1
Automatisation	1	1	2
Coût	1	1	2
Σ rangs	16	21	23

* L'ordre de classement a été établi en accordant à chacun des tests le rang 1, 2 ou 3, le premier rang étant jugé supérieur. Les tests offrant essentiellement les mêmes avantages ont obtenu le même rang. Le total le plus bas désigne donc le test le plus avantageux.

4.4.2.1 Reconnaissance par la communauté scientifique

Le test de fluctuation n'est pas fréquemment utilisé par la communauté scientifique, contrairement au test d'Ames classique réalisé en boîtes de Pétri sur gélose. Le test de fluctuation utilise des souches de *S. typhimurium* du test d'Ames qui ont été développées au début des années 1970. Ces souches du test d'Ames ont été testées avec plus de 5000 produits chimiques

(Maron et Ames, 1983). Plus de 2000 laboratoires à travers le monde ont fait usage des souches du test d'Ames et des centaines de travaux scientifiques ont rapporté leur utilisation. Mis au point au début des années 1980, le SOS Chromotest s'est acquis une excellente réputation au fil des années. Il a servi à évaluer l'activité génotoxique de plus de 500 substances chimiques et plus de 100 publications scientifiques sont issues de son application (Quillardet et Hofnung, 1993). Le Mutatox a été soumis à plusieurs études comparatives avec le test d'Ames, réalisées sur des substances pures et des mélanges complexes. De 200 à 300 substances chimiques auraient été testées avec le Mutatox et une cinquantaine d'articles auraient été publiés à son sujet.

4.4.2.2 Simplicité

Des trois tests, le Mutatox est le plus simple à réaliser et le moins laborieux. Cependant, les réactifs ne sont présentement pas disponibles sur le marché. Selon le protocole adopté dans cette étude, un essai comprenant deux échantillons peut être démarré en moins d'une heure. De plus, on peut le réaliser sur des échantillons non filtrés ou non stérilisés. Le SOS Chromotest vient en deuxième place pour la simplicité, et il faut environ deux fois plus de temps pour initier un essai avec deux échantillons comparativement au Mutatox. Le test de fluctuation est de loin le plus complexe et le plus laborieux des trois tests car l'analyse de quatre échantillons requiert une pleine journée de travail. En ce qui concerne le SOS Chromotest et le test de fluctuation, les souches bactériennes doivent être maintenues et vérifiées, et, pour chaque test, plus d'une vingtaine de solutions ou de réactifs doivent être préparés. L'utilisation de trousse commerciales pour ces deux derniers tests allège la préparation des réactifs mais ne simplifie pas la réalisation de l'essai. L'achat de trousse peut s'avérer une option plus coûteuse lorsque le nombre d'échantillons à tester est élevé.

4.4.2.3 Coûts

Selon les protocoles appliqués, les coûts des essais SOS Chromotest et Mutatox sont d'environ 500 \$CAN (environ 350 €) par échantillon, alors qu'il en coûte environ 900 \$CAN (environ 630 €) pour la réalisation d'un essai de fluctuation. Ces coûts excluent les dépenses associées aux infrastructures et la dévaluation (ou l'amortissement) de l'appareillage.

4.4.2.4 Autres considérations

La stérilité n'est pas essentielle à la réalisation des essais SOS Chromotest et Mutatox, mais le test de fluctuation requiert du matériel stérile et le travail doit être effectué en conditions aseptiques. Il n'est toutefois pas nécessaire d'assurer la stérilité des extraits dans le DMSO, car il est très peu probable que des bactéries survivent dans ce solvant. Selon les plans expérimentaux appliqués, on peut analyser quatre extraits par jour (excluant la préparation des extraits) avec le test de fluctuation et le SOS Chromotest, comparativement à huit avec le Mutatox.

4.5 CONCLUSION

Nos travaux démontrent que la procédure ECF élaborée et appliquée ici pour recueillir les fractions organiques couplée à la réalisation du SOS Chromotest sur la fraction F₂, permettent de déterminer le potentiel génotoxique de sédiments, est rapide, efficace et relativement peu coûteuse. Bien que seule la méthodologie ne peut servir à identifier les agents chimiques individuels responsables des effets observés, elle permet de ramener la complexité chimique des sédiments à la considération exclusive des contaminants d'intérêt.

Comme ailleurs, la variabilité inhérente à cette méthodologie doit être considérée dans l'interprétation des résultats. Elle peut résulter de plusieurs facteurs, tels que l'efficacité des méthodes de nettoyage de la verrerie, la pureté du solvant et des réactifs, la performance du chromatographe et des appareils de mesure, l'âge et la condition des organismes, des erreurs aléatoires de l'analyste, la température de la salle d'expérimentation et des différences dans le matériel de laboratoire. Des travaux ultérieurs portant sur la validation de cette méthodologie, pour déterminer la variance associée à la procédure d'extraction, de concentration et de fractionnement ainsi qu'aux lectures de génotoxicité, sont présentés et discutés dans le cadre d'une publication fournie à l'Annexe 4 de cet ouvrage.

CHAPITRE CINQ

APPLICATION DU SED-TOX À DES SÉDIMENTS MARINS

Ce chapitre décrit la première application de l'Indice SED-TOX pour l'évaluation de la qualité de sédiments. Les sédiments soumis à l'évaluation décrite dans les paragraphes qui suivent ont été prélevés en milieu marin, à l'Anse-à-Beaufils (Gaspésie, Québec, Canada). Deux aires ont été échantillonnées : i) la zone de dragage (échantillonnée en juillet 1993) qui se trouve à l'intérieur du port de pêche, et ii) la zone d'immersion des déblais (aussi appelée zone de dépôt, échantillonnée en juillet 1994), qui se situe à l'extérieur du havre, à environ 5 km de la côte (Figure V.1).



Figure V.1: Emplacement des stations d'échantillonnage à l'Anse-à-Beaufils

La zone de dépôt reçoit annuellement entre 3900 et 7800 tonnes métriques de matériaux dragués. Les sédiments de référence ont été prélevés à des stations relativement non contaminées, localisées dans un rayon de 500 à 700 m de la zone de dépôt.

Le présent chapitre vise à répondre aux questions suivantes :

- Quel est le potentiel toxique des sédiments provenant du site de dragage et de ceux prélevés au site de dépôt à l'Anse-à-Beaufils?
- Est-ce que l'Indice SED-TOX est suffisamment sensible pour discriminer le potentiel toxique de sédiments provenant de sites présentant des profils de contamination différents?
- Est-ce que les mesures de l'Indice SED-TOX sont corrélées avec les concentrations chimiques mesurées dans les sédiments? et,
- sur la base des résultats obtenus dans le cadre de cette étude, quel constat peut être porté sur les avantages et limites de l'Indice SED-TOX?

Les résultats sont également exposés et discutés dans la publication jointe à l'Annexe 6 de cet ouvrage (article intitulé « *The SED-TOX Index : Toxicity-directed management tool to assess and rank sediments based on their hazard – concept and application* »). Cette publication couvre également l'évaluation de sédiments provenant de Cap-aux-Meules, un autre site marin du fleuve Saint-Laurent (Québec, Canada). L'application du SED-TOX pour l'évaluation de sédiments lacustres est présentée au Chapitre VI ainsi qu'à l'Annexe 7 (article intitulé « *Comparative Study of the Sediment-Toxicity Index, Benthic Community Metrics and Contaminant Concentrations* »).

5.1 CARACTÉRISATION BIOANALYTIQUE

Dans le cadre des travaux effectués à l'Anse-à-Beaufils, sept bioessais ont été réalisés (Tableau V.1). L'Annexe 1 présente de plus amples détails sur les méthodes utilisées. Les résultats des bioessais ont été traités selon la procédure de calcul de l'Indice SED-TOX détaillée au Chapitre III. Quatre fractions sédimentaires (EI, SH, SE, EO) ont servi à évaluer la toxicité des sédiments provenant de la zone de dragage et de la zone d'immersion des déblais. En 1993, sept stations (AB1 à AB7) ont été échantillonnées dans la zone de dragage et l'une d'elles a fait l'objet d'un double échantillonnage (AB6) à des fins de contrôle de qualité. Trois stations (AB8 à AB10) ont également été échantillonnées au site de référence. Quant aux échantillons prélevés en

1994, ils proviennent de sept stations (AB31 à AB36, AB38) de la zone d'immersion des déblais et de deux stations (AB39 et AB41) du site de référence.

Tableau V.1 : Tests de toxicité utilisés pour évaluer les sédiments de l'Anse-à-Beaufils

Organismes	Espèces	Exposition	Paramètres d'effet	Fractions	Unités de mesure
Bactéries	<i>V. fischeri</i>	15 min (aiguë)	Luminescence (Microtox)	EI	% v.v ⁻¹
	<i>V. fischeri</i>	5 min (aiguë)	Luminescence (Microtox)	SH	mg.L ⁻¹
	<i>V. fischeri</i>	15 min (aiguë)	Luminescence (Microtox)	OE	µL.mL ⁻¹
	<i>E. coli</i>	2 h chronique	Activité enzymatique (Toxichromotest)	SH	% v.v ⁻¹
	<i>E. coli</i>	2 h (chronique)	Toxicité (SOS Chromotest)	EO	µL.mL ⁻¹
Invertébrés benthiques	<i>A. virginiana</i>	10 j (aiguë)	Survie	SE	% mortalité
	<i>L. pictus</i>	20 min (aiguë)	Fécondation	EI	% v.v ⁻¹

5.2 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Les échantillons de sédiments de la zone de dragage ont été caractérisés pour leurs teneurs en contaminants et en autres composés physico-chimiques. Le pourcentage d'humidité totale, la granulométrie, l'azote ammoniacal non ionisé (NH₃), le carbone organique total (COT), et les teneurs en métaux (As, Cd, Cu, Hg, Pb, et Zn) ont été déterminées selon les protocoles de EC et MENV (1992). Les contaminants organiques, incluant le p,p-DDE et 10 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) ont été mesurés selon des procédures établies (US EPA, 1986) et un programme de contrôle et d'assurance de la qualité (Fouquet, 1994). Les résultats sont rapportés en fonction du poids secs des sédiments (Tableau V.2).

Tableau V.2 : Sommaire des concentrations chimiques mesurées¹ dans les échantillons de sédiments (exprimés en termes de poids secs)

Sites	Stations	HAP totaux ² (µg/g)	p,p-DDE (ng/g)	As (µg/g)	Cd (µg/g)	Cu (µg/g)	Hg (µg/g)	Pb (µg/g)	Zn (µg/l)
Zone de dragage	AB-1	0,18	0,35	8,8	0,10	5,5	0,11	3,22	36,1
	AB-2	ND ³	0,43	8,4	0,10	6,2	0,03	4,06	38,2
	AB-3	ND	0,30	13,5	0,14	13,5	0,04	3,10	45,5
	AB-4	ND	0,30	15,4	0,27	8,7	0,04	3,40	51,6
	AB-5	ND	0,36	17,3	0,14	8,0	0,28	3,36	47,2
	AB-6a	ND	0,49	23,4	0,13	11,2	0,10	2,49	52,4
	AB-6b	0,28	1,40	8,8	0,11	5,2	1,84	2,04	18,9
Référence	AB-7	1,15	0,26	25,5	0,10	11,8	0,06	3,15	54,6
	AB-8	ND	0,20	11,2	0,03	5,9	0,32	2,69	34,6
	AB-9	ND	0,22	11,4	0,05	7,2	0,03	2,43	32,9
	AB-10	0,12	0,32	10,6	0,03	5,3	0,03	2,62	32,4

¹ Les BPC, chlorobenzènes et pesticides organochlorés n'ont pas été détectés (i.e., étaient en concentration inférieure à la limite de détection) dans les sédiments. Ils ne sont donc pas représentés dans ce tableau.

² Somme des HAP suivants: anthracène, phénanthrène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b,j,k)fluoranthène, benzo(a)pyrene.

³ ND: non détecté.

5.3 RÉSULTATS BRUTS ET TRAITEMENT DES DONNÉES

Trois paramètres de mesure ont servi à évaluer la toxicité des sédiments de l'Anse-à-Beaufils : la CI_p pour le test Microtox, le Toxichromotest et le test d'inhibition de la fécondation chez l'oursin, la CSE pour le SOS Chromotest et le pourcentage de survie pour les amphipodes. Le Tableau V.3 présente les résultats bruts obtenus et le Tableau V.4, les données de toxicité normalisées en unités toxiques, exprimées en poids secs de sédiments (UTsec).

Tel que précisé au Chapitre III, la conversion des données bioanalytiques en facteurs d'accroissement de la toxicité (FAC) nécessite *a priori* la détermination de la limite de détection de chacun des bioessais réalisés. Les résultats de la conversion sont présentés au Tableau V.5.

Tableau V.3 : Toxicité des sédiment - résultats bruts

Organismes		<i>V. fischeri</i>			<i>A. virginiana</i>	<i>L. pictus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> PQ37 (SOS Chromotest)	
Paramètres d'effet		Bioluminescence			Survie	Fécondation	Synthèse de β -gal	Toxicité	
Fractions ¹ et durée de l'essai		EI (15 min)	OE (15 min)	SH (20 min)	SE (14 j)	EI (20 min)	SH (120 min)	OE (120 min)	
Paramètres de mesure ²		CI ₅₀	CI ₅₀	CI ₅₀	Survie	CI ₂₅	CI ₁₀₀	CSE	
Sites	Stations	% v.v ⁻¹	$\mu\text{L.mL}^{-1}$	mg hum.L ⁻¹	%	% v.v ⁻¹	% p.v ⁻¹	$\mu\text{L.mL}^{-1}$	
Zone de dragage	AB-1	> 100	-	6 900	85	> 100	42	7,07	7,07
	AB-2	> 100	-	5 158	95	> 100	25	1,77	0,90
	AB-3	43	-	2 206	93	54	10	1,77	1,77
	AB-4	1	-	1 665	81	3	10	0,45	3,54
	AB-5	6	-	3 279	88	41	6	0,20	1,77
	AB-6a	3	-	2 206	0	2	13	0,45	3,54
	AB-6b	4	-	1 628	0	3	25	1,77	3,54
	AB-7	38	-	12 412	93	3	50	1,00	2,95
Zone d'immersion des déblais	AB-31	> 100	0,80	7 322	87	29	-	3,54	10,00
	AB-32	> 100	6,50	11 057	81	56	-	3,54	10,00
	AB-33	> 100	0,06	4 354	72	30	-	1,77	3,54
	AB-34	> 100	0,05	2 960	69	41	-	1,77	3,54
	AB-35	> 100	0,30	20 636	78	61	-	1,77	7,07
	AB-36	> 100	0,08	21 681	80	75	-	1,77	7,07
	AB-38	> 100	0,20	29 623	74	79	-	7,07	10,00
Référence	AB-8	> 100	-	22 850	93	> 100	50	3,54	10,00
	AB-9	> 100	-	21 071	89	> 100	67	2,95	10,00
	AB-10	> 100	-	22 627	95	> 100	> 100	2,35	10,00
	AB-39	> 100	0,10	22 654	71	67	-	3,54	10,00
	AB-41	> 100	3,00	24 536	80	81	-	7,07	10,00

¹ EI : Eau interstitielle; EO : Extrait organique; SH : phase solide-humide; SE : sédiment entier.

² CIp: Concentration qui produit un effet donné; CSE : Concentration seuil produisant un effet.

Tableau V.4 : Toxicité des sédiments - mesures exprimées en unités toxiques (poids sec¹)

Organismes		<i>V. fischeri</i>			<i>A. virginiana</i>	<i>L. pictus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> PQ37
Paramètres d'effet		Bioluminescence			Survie	Fécondation	Activité enzymatique	Toxicité (-S9)
Fractions		EI	OE	SH	SE	EI	SH	OE
Paramètres de mesure		CI ₅₀	CI ₅₀	CI ₅₀	Incidences de survie	CI ₂₅	CI ₁₀₀	CSE
Zone de dragage	AB-1	ND ³	-	219	ND	ND	36	328
	AB-2	ND	-	262	ND	ND	54	995
	AB-3	1,4	-	655	ND	1,2	145	1167
	AB-4	74,6	-	917	ND	24,9	153	5165
	AB-5	9,3	-	431	ND	1,5	236	9581
	AB-6a	82,9	-	778	100	103,6	132	8608
	AB-6b	58,3	-	1055	100	70,0	69	2156
Zone d'immersion des déblais	AB-7	1,0	-	103	ND	12,7	26	1331
	AB-31	ND	2200	191	ND	1,3	-	497
	AB-32	ND	259	123	ND	0,7	-	475
	AB-33	ND	28011	316	ND	ND	-	950
	AB-34	ND	33058	463	ND	ND	-	934
	AB-35	ND	4859	64	ND	ND	-	824
	AB-36	ND	19084	61	ND	ND	-	863
Référence	AB-38	ND	7553	44	ND	ND	-	214
	AB-8	ND	-	60	ND	ND	27	445
	AB-9	ND	-	63	ND	ND	20	332
	AB-10	ND	-	60	ND	ND	14	368
	AB-39	ND	14771	57	ND	ND	-	417
	AB-41	ND	524	53	ND	ND	-	444

¹ Résultats exprimés en UTsec, sauf pour le test de survie des amphipodes (UT).

² L_{tox} = Limite de toxicité définie pour chacun des bioessais (voir 4.3.4).

³ ND : non détecté.

Une simple comparaison des données présentées aux tableaux V.4 et V.5 montre clairement que l'expression des résultats de toxicité par rapport au seuil mesurable du critère d'effet (FAC) diminue grandement l'écart entre les données obtenues au moyen des différents bioessais. Prenons l'exemple du test Microtox avec la fraction OE où les valeurs varient entre 259 et 33058 lorsqu'elles sont exprimées en UTsec comparativement à une marge située entre 1 à 186 lorsqu'elles sont présentées en FAC. Ainsi, l'ordre de grandeur des FAC associés à la phase EO est comparable à celui des phases EI (0-245), SH (0-67) et SE (0-140).

Les scores SED-TOX des sédiments provenant des deux zones contaminées (dragage et immersion des déblais) et du site de référence ont été comparés à l'aide d'une analyse de variance multivariée de type GLM (general linear model), couplée à des énoncés de contraste⁷ (SAS Institute Inc., 1988). Les résultats du calcul du rapport F (distribution de Fisher) des contrastes et du seuil de signification (p) sont présentés. On a par la suite procédé à des analyses discriminantes afin de déterminer s'il est possible, sur la base des IF_m , d'établir des distinctions entre les sites ou zones sédimentaires. Enfin, les relations entre les teneurs en contaminants et les mesures de toxicité ont été déterminées par des analyses de corrélation non paramétriques de *Spearman* (SAS Institute Inc., 1988).

5.3.1 Comparaison des Indices SED-TOX

Un exemple de calcul de l'Indice SED-TOX est fourni à l'Annexe 3 de cet ouvrage. Mis à part les échantillons prélevés aux stations AB-1 et AB-2, tous les sédiments de la zone de dragage se trouvent dans les dix premiers rangs de toxicité relative et cette zone a contribué à près de 90 % de la toxicité totale observée à l'Anse-à-Beaufils (Tableau V.6). Les deux répliques de la station AB-6 (AB-6a et AB-6b) ont montré la toxicité la plus élevée (indice de 2,7) et ont révélé des effets néfastes avec toutes les fractions analysées. Bien que d'autres analyses seraient requises, la concordance des résultats obtenus avec les deux répliques de la station AB-6 est une bonne indication de la répétabilité de la batterie de bioessais sélectionnée et de l'Indice SED-TOX.

⁷ Les contrastes, ou comparaisons, permettent d'identifier quelles moyennes (aires ou zones sédimentaires) diffèrent entre elles.

Tableau V.5 : Toxicité des sédiments - facteurs d'accroissement de la toxicité (FAC) par rapport à la limite de détection

Organismes		<i>V. fischeri</i>			<i>A. virginiana</i>	<i>L. pictus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> PQ37
Paramètres d'effet		Bioluminescence			Survie	Fécondation	Activité enzymatique	Toxicité (-S9)
Fractions		EI	OE	SH	SE	EI	SH	OE
Paramètres de mesure		CI ₅₀	CI ₅₀			CI ₂₅	CI ₁₀₀	CSE
Sites	Stations							
Zone de dragage	AB-1	0	-	16	0	0	3	2
	AB-2	0	-	19	0	0	4	6
	AB-3	3	-	48	0	3	11	7
	AB-4	176	-	67	0	59	11	29
	AB-5	22	-	31	0	3	17	54
	AB-6a	196	-	57	140	245	10	48
	AB-6b	138	-	77	140	165	5	12
	AB-7	2	-	8	0	30	2	7
Zone d'immersion des déblais	AB-31	0	12	14	0	3	-	3
	AB-32	0	1	9	0	1	-	3
	AB-33	0	157	23	0	2	-	5
	AB-34	0	186	34	1	2	-	5
	AB-35	0	27	5	0	0	-	5
	AB-36	0	107	4	0	0	-	5
	AB-38	0	42	3	0	0	-	1
Référence	AB-8	0	-	4	0	0	2	2
	AB-9	0	-	5	0	0	1	2
	AB-10	0	-	4	0	0	0	2
	AB-39	0	83	4	0	0	-	2
	AB-41	0	3	4	0	0	-	2

Tableau V.6 : Toxicité des sédiments - Indices fractionnels de toxicité moyenne relative (IFm) et indices SED-TOX

Sites	Stations	Indices fractionnels				<i>n</i>	<i>Toximesures</i>	<i>Indices SED-TOX</i> (log ₁₀)	Contributions (%)	Classes de toxicité ¹	Rangs ²
		EI	SH	SE	OE						
Zone de dragage	AB-1	0	9	0	0	2	6	0,8	0,45	2	13
	AB-2	0	11	0	0	2	8	0,9	0,58	2	11
	AB-3	3	29	0	0	3	32	1,5	2,34	3	6
	AB-4	118	39	0	1	3	158	2,2	11,40	4	3
	AB-5	13	24	0	3	3	40	1,6	2,87	3	5
	AB-6a	220	33	140	2	4	528	2,7	38,12	4	1
	AB-6b	152	41	140	1	4	444	2,7	32,07	4	2
	AB-7	16	5	0	0	3	21	1,3	1,53	3	8
							Total	89,35			
Zone d'immersion des déblais	AB-31	1	14	0	1	3	16	1,2	1,16	3	9
	AB-32	1	9	0	0	3	10	1,0	0,71	3	10
	AB-33	1	23	0	8	3	32	1,5	2,33	3	7
	AB-34	1	34	1	10	4	61	1,8	4,38	3	4
	AB-35	0	5	0	2	2	4	0,6	0,30	2	15
	AB-36	0	4	0	6	2	7	0,8	0,48	2	12
	AB-38	0	3	0	2	2	4	0,6	0,26	2	16
								Total	9,63		
Référence	AB-8	0	3	0	0	2	2	0,4	0,16	2	18
	AB-9	0	3	0	0	2	2	0,3	0,15	2	19
	AB-10	0	2	0	0	2	2	0,2	0,11	2	20
	AB-39	0	4	0	4	2	6	0,8	0,40	2	14
	AB-41	0	4	0	0	2	3	0,4	0,20	2	17
								Total	1,02		
							1385	100,0			

¹ Classes de toxicité : 1 - nulle; 2 - marginale; 3 - moyenne; 4 - élevée.

² Toxicité décroissante.

En troisième, cinquième et sixième rangs de toxicité décroissante, nous trouvons les sédiments des stations AB-4, AB-5 et AB-3. Ces sous-échantillons sont responsables d'effets toxiques pour toutes les fractions, à l'exception des sédiments entiers (Tableau V.6). Les réponses observées étaient relativement fortes, et dépassaient les limites de détection des tests par des FAC parfois supérieurs à 100 (Tableau V.5).

Tel que suggéré par les indices SED-TOX (Tableau V.6), le potentiel toxique des sédiments de la zone d'immersion varie de marginal à moyen et ces sédiments n'ont contribué qu'à environ 10 % de la toxicité totale observée à l'Anse-à-Beaufils. La seule station qui se démarque légèrement dans cette catégorie est AB-34 qui a contribué à 4 % de la toxicité globale observée dans cette étude; cet échantillon s'est révélé toxique dans cinq bioessais, comparativement à trois ou quatre pour ceux provenant des autres stations d'immersion (Tableau VI.4). En revanche, tous les sous-échantillons de sédiments des stations de référence ont montré une toxicité marginale pour les organismes aquatiques.

La toximesure a permis d'établir des distinctions notables entre les aires et zones sédimentaires de l'Anse-à-Beaufils ($F=4,47$; $p=0,0275$). L'analyse des contrastes a révélé des écarts significatifs entre les zones du site contaminé et entre le site contaminé et le site de référence. Les matériaux de la zone portuaire ont montré un potentiel écotoxique significativement supérieur à ceux de la zone d'immersion des déblais ($F = 6,63$; $p = 0,0197$) et ceux du site de référence ($F = 6,09$; $p = 0,0245$).

5.3.2 Corrélations entre les teneurs en contaminants et les indices SED-TOX

Les causes exactes de la toxicité observée avec les sédiments de l'Anse-à-Beaufils ne peuvent être identifiées à partir des données recueillies dans cette étude. Il faudrait recourir à des procédures d'évaluation et d'identification de la toxicité (TIE) pour établir de telles relations. Les contaminants qui pourraient avoir contribué à la toxicité observée ont toutefois été pressentis par une approche à deux niveaux.

Les données chimiques et toxicologiques ont d'abord été soumises à des analyses de corrélation. Les coefficients de corrélation de *Spearman* ont été déterminés afin

d'identifier les tendances de covariance entre les concentrations d'agents toxiques potentiels et les mesures de toxicité (indices SED-TOX).

Étant donné que les teneurs en contaminants peuvent covarier dans une matrice environnementale complexe telle que des sédiments, une deuxième analyse est requise pour identifier quels contaminants sont les plus susceptibles de contribuer à la toxicité observée. Les données de caractérisation chimique qui ont montré une forte corrélation avec les données de toxicité ont ensuite été comparées aux recommandations d'EC et MENV (1992) pour la qualité des sédiments du Saint-Laurent (Tableau V.7 – voir § 2.1.1 pour une description de ces critères).

Tableau V.7 : Critères chimiques définis pour les sédiments du fleuve Saint-Laurent et teneurs en contaminants dans les sédiments de l'Anse-à-Beaufils

Paramètres chimiques	Concentrations ($\mu\text{g.g sec}^{-1}$) ¹				
	Critères ²			Sites	
	SSE	SEM	SEN	Zone de dragage	Référence
Métaux					
As extractible	3,0	7	17	8,4 - <u>25,5</u>	10,6 - 11,4
Cd extractible	0,2	0,9	3	0,10 - 0,17	0,03 - 0,05
Cu extractible	28	28	86	5,2 - 13,5	5,3 - 7,2
Hg total	0,05	0,2	1	0,03 - <u>1,84</u>	0,03 - 0,32
Pb extractible	23	42	170	2,04 - 4,06	2,43 - 2,69
Zn extractible	100	150	540	18,9 - 54,6	32,4 - 34,6
Organiques					
HAP totaux ³	1,1	-	-	ND - 1,15	ND - 0,12
p,p-DDE	2	7	50	0,26 - 1,40	0,20 - 0,32

- Aucun critère défini pour ce paramètre.

ND : non détecté.

¹ Sauf pour le p,p'-DDE, pour lequel les résultats sont exprimés en ng.g sec^{-1} .

² SSE : seuil sans effets; SEM : seuil d'effets mineurs; SEN : seuil d'effets néfastes.

³ Somme des HAP suivants : anthracène, phénanthrène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b,j,k)fluoranthène, benzo(a)pyrene.

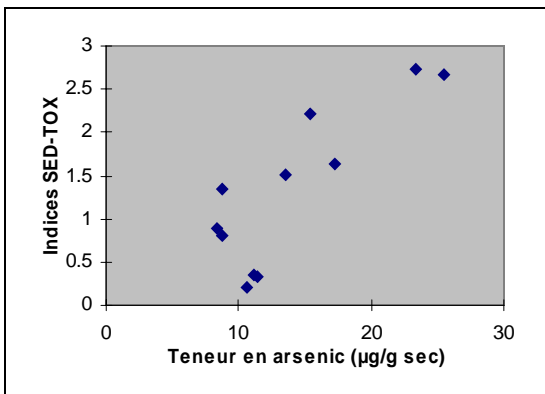
Les indices SED-TOX sont corrélés aux concentrations de As, Cd, et Zn (Tableau V.8). Le zinc montre la plus forte corrélation (Figure V.2), ce qui suggère que la toxicité des matériaux augmente à mesure que les teneurs en zinc se rapprochent du *SEN*.

Tableau V.8 : Coefficients de corrélation de Spearman entre les indices SED-TOX et les teneurs en contaminants des sédiments de la zone de dragage et de référence

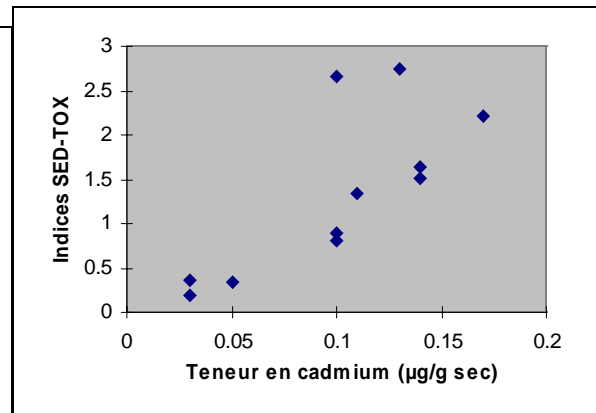
Paramètres chimiques	Coefficients de corrélation <i>Spearman</i> ¹							
	HAP totaux	p,p-DDE	As	Cd	Cu	Hg	Pb	Zn
	0,00	0,65	0,70*	0,73*	0,36	0,317	0,25	0,84**

* $p < 0,05$ - ** $p < 0,005$.

a) Arsenic



b) Cadmium



c) Zinc

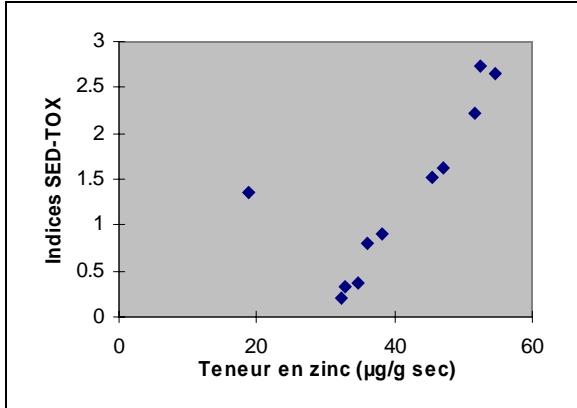


Figure V.2 : Relation entre les teneurs en contaminants et les indices SED-TOX des matériaux de l'Anse-à-Beaufils

Il est possible, compte tenu que les concentrations de zinc sont inférieures au SEN, que la toxicité soit plutôt associée à d'autres facteurs confondants, tel que la granulométrie, le carbone organique total, ou encore les concentrations d'azote ammoniacal et/ou de sulfures. Ces hypothèses, qui débordaient du cadre de ce travail, n'ont pas été validées.

De façon générale, les niveaux de contamination des sédiments prélevés dans la zone de dragage dépassent ceux des sédiments de référence par des facteurs variant entre 2 et 9 (Tableau V.7). Parmi les métaux analysés, seuls l'arsenic et le mercure dépassent le *SEN* (Tableau V.7). Les échantillons AB-6a et AB-7 révèlent les teneurs les plus élevées en arsenic (23,4-25,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) alors que les sédiments de la station AB-6b renferment les plus fortes concentrations de mercure (1,84 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de tous les sédiments prélevés dans la zone de dragage (Tableau V.2). Le sous-échantillon de la station AB-5 a également montré un dépassement du *SEN* pour l'arsenic (17,3 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ – Tableau V.2). En revanche, les substances organiques, y compris le pesticide p,p'-DDE et les HAP totaux, ne sont pas présents à des concentrations susceptibles de causer des effets néfastes chez les organismes exposés.

Ces résultats suggèrent que les sédiments qui renferment des teneurs en métaux supérieures au *SEN* causent une toxicité moyenne ou élevée chez les organismes testés. Bien que nous ne pouvons conclure à une relation causale à partir des corrélations entre les niveaux de contamination et les effets toxiques, ou des dépassements du critère *SEN*, ces deux types d'information suggèrent que les métaux contribuent en grande partie à la toxicité des sédiments de la zone de dragage de l'Anse-à-Beaufils. Il importe néanmoins de noter que les caractéristiques géochimiques des sédiments (telles la granulométrie, la teneur en matières organiques, le pH, la teneur en azote ammoniacal et en sulfures) peuvent avoir influencé la toxicité des sédiments. À titre d'exemple, l'azote ammoniacal présent dans la fraction EI des sédiments peut causer des effets toxiques chez des organismes de la colonne d'eau (Ankley *et al.*, 1990).

En revanche, les teneurs en contaminants des échantillons prélevés aux stations de dragage AB-3 et AB-4 étaient inférieures au *SEN* mais ces matériaux ont révélé une toxicité moyenne dans les bioessais. Ceci indique que les tests de toxicité peuvent parfois suggérer un potentiel toxique pour le biote, que les critères chimiques seuls n'auraient pas pu révéler.

5.3.3 Avantages et limitations du SED-TOX sédiment

Les applications du SED-TOX sont nombreuses. Il peut entre autres être utilisé pour déterminer si les dangers écotoxiques associés aux projets de dragage sont acceptables et si des restrictions particulières sont requises lors des activités de restauration pour diminuer les risques d'effets néfastes pour l'environnement. L'indice relatif de danger potentiel obtenu peut faciliter l'établissement des priorités lors des activités de restauration et aider à déterminer des seuils de toxicité ou objectifs de restauration qui seraient jugés protecteurs pour divers niveaux trophiques. Dans le cadre d'un projet de surveillance, l'indice SED-TOX peut donc constituer un outil de détection des changements de la qualité des sédiments consécutifs à une activité de restauration.

La limitation la plus importante liée à l'utilisation de l'algorithme résulte en fait des données manquantes dans les bioessais. Pour éviter des faux négatifs, il est recommandé de ne pas considérer les bioessais qui n'ont pas été effectués avec tous les échantillons puisqu'un test sensible comme le test Microtox avec la fraction organique extractible (OE) pourrait créer des écarts considérables entre les stations dont les sédiments ont été soumis à ce bioessai et celles qui ne l'ont pas été. Ceci ne s'applique toutefois pas dans le cas de l'étude réalisée à l'Anse-à-Beaufils puisque le potentiel écotoxique de la fraction OE était très faible. Il serait cependant opportun de respecter cette recommandation, surtout lorsque l'évaluation porte sur des sédiments montrant des niveaux de contamination relativement élevés.

Les tests qui ne permettent pas d'obtenir une courbe de concentration-réponse et de calculer une CI_p comportent également des limitations puisque le paramètre de mesure utilisé (CSE) dépend des concentrations initiales testées. C'est ce qui nous a porté à utiliser de préférence les CI_p dans l'algorithme lorsque disponibles pour les tests et en dernier lieu, les CSE.

Par ailleurs, l'approche ne permet pas de détecter les échantillons qui causent la stimulation d'une activité biologique (par exemple une activité enzymatique ou encore la croissance). Les stimulations peuvent dans certains cas être problématiques pour

l'environnement; pensons à l'activation de la croissance des algues qui peut engendrer l'eutrophisation du milieu. Ce type de réponse devra être considéré dans le raffinement de l'indice SED-TOX.

La dernière limitation et non la moindre, concerne l'interprétation des résultats des tests effectués avec la fraction organique. Vu que les tests sont conduits avec un «concentré» de contaminants organiques, il est possible que des concentrations aussi faibles que des ppb causent des effets toxiques. Il serait donc utile d'avoir un point de référence (témoin positif) qui permettrait de relativiser la toxicité des extraits. Le développement ou l'adoption d'une procédure normalisée de préparation des extraits pour la réalisation de bioessais serait également souhaitable afin de faciliter l'uniformisation et l'intégration des données dans l'algorithme.

5.4 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

En conclusion, l'approche SED-TOX s'est révélée discriminante pour les aires et zones sédimentaires de l'Anse-à-Beaufils sur la base de leur potentiel de toxicité. De façon générale, la qualité des sédiments prélevés dans la zone d'immersion des déblais se situait entre celle des sédiments prélevés dans la zone de dragage et celle des matériaux du site de référence. Par ailleurs, les sédiments qui ont révélé les concentrations de contaminants les plus élevées (AB-6a et AB-6b) provenaient de la zone de dragage et se démarquaient des autres par leur potentiel écotoxique élevé (classe 4). Par ailleurs, les sédiments recueillis à la station de dragage AB-4 ont montré des niveaux de contamination inférieurs aux niveaux susceptibles de causer des effets néfastes (SEN) selon EC et MENV (1992); ces sédiments ont toutefois révélé un potentiel toxique élevé pour des organismes de la colonne d'eau et du benthos. Ces résultats suggèrent que l'utilisation unique des critères chimiques peut sous-estimer l'impact écotoxique des sédiments.

Le but de l'approche SED-TOX n'est toutefois pas de remplacer les critères chimiques mais plutôt de fournir un outil additionnel d'évaluation de la qualité des matrices environnementales, particulièrement dans les cas où le niveau de contamination se situe

en deçà des critères. Les données afférentes aux communautés benthiques, qui constituent le troisième élément de l'approche en triade (Chapman, 1992), pourraient également fournir des informations supplémentaires sur la qualité des sédiments et faciliter la prise de décision relative à la gestion des matrices contaminées.

Enfin, il importe de préciser à nouveau que le SED-TOX a été conçu pour guider les experts dans leur prise de décisions et non pas pour remplacer leur jugement scientifique et professionnel. Par ailleurs, il ne représente d'aucune façon une mesure absolue du risque écotoxique. Cet outil s'est cependant révélé efficace pour relativiser le potentiel écotoxique des sédiments provenant de deux sites de l'Anse-à-Beaufils (Gaspésie, Québec).

CHAPITRE SIX

APPLICATION DU SED-TOX À DES SÉDIMENTS LACUSTRES ET VALIDATION

6.1 INTRODUCTION

Au précédent chapitre, nous avons décrit l'application de l'Indice SED-TOX pour l'évaluation du potentiel toxique de sédiments marins. Les résultats ont démontré d'une part que l'Indice est suffisamment sensible pour distinguer des sites sédimentaires présentant un gradient de contamination chimique, et d'autre part que le dosage chimique des contaminants dans les sédiments ne suffit pas à prévoir les impacts toxicologiques sur les organismes exposés.

L'objectif du présent chapitre est de démontrer l'application de l'Indice SED-TOX à des sédiments d'eau douce et à le valider en le comparant à des mesures structurales de communautés benthiques. Ces travaux ainsi que ceux portant sur d'autres échantillons ont fait l'objet d'une publication placée à l'Annexe 7.

6.2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

6.2.1 Échantillonnage

Les sédiments ont été prélevés à deux séries de sites distincts localisés dans l'écosystème du Saint-Laurent (Québec, Canada; Figure VI.1):

Série A :

- Lac Saint-François : reconnu pour son gradient de contamination chimique, de faible dans la portion est du lac (sites 1-3B et 4-8), à relativement plus élevé dans la partie nord (sites 1-1A et 1-2A). Les sites 1-3B et 4-8 sont des sites de référence.

- Lac Saint-Louis: les sédiments ont été prélevés aux sites 1-5B and 1-6B, reconnus pour leur faible degré de contamination organique et inorganique.
- La portion est du Port de Montréal : où des terminaux de raffineries de pétrole sont localisés – six sites (2-2A, 2-5B, 2-6B, 3,1- 3-3, 4-7) reconnus pour leur contamination en BPC, HAP, et huiles et graisses, ainsi qu’un site de référence (3-2) relativement non contaminé.
- Ile aux Corbeaux (site 4-6): sédiments contaminés par des métaux lourds.
- Lac Erié: le site 2-1B a servi de sédiment de contrôle négatif, alors que le site 2-1A a servi de sédiment de contrôle positif.

Série B :

- Port de Montréal: Les sédiments ont été prélevés aux sites SH-2, SP-17, FC-10, tous considérés comme étant fortement contaminés par des métaux lourds, BPC, HAP, et huiles et graisses, le site PBR considéré modérément contaminé, et le site de référence LSL localisé à l’extérieur du port.



Figure VI.1 : Emplacement des sites d’échantillonnage de sédiments lacustres

Les sédiments de surface (15 cm) ont été prélevés à l’aide d’une benne Ponar (0.23-m²). Tous les échantillons ont été soumis à des analyses chimiques, à des bioessais et à des analyses taxonomiques de communautés benthiques. Les résultats des analyses

taxonomiques sont présentés sous forme de moyenne. Les sédiments ont été placés dans des contenants dont l'intérieur était recouvert d'un sac de polyéthylène. Afin de prévenir un risque de contamination entre les stations, l'échantillonneur et les outils d'échantillonnage étaient préalablement rincés avec l'eau du site. Les échantillons ont été maintenus à 4°C à la noirceur pour une période maximale de 90 jours (mais en général, pour un maximum de 30 jours) précédant leur bioanalyse dans des contenants scellés.

6.2.2 Analyses chimiques

Les concentrations en métaux lourds ont été quantifiées par la méthode de spectrométrie de masse à couplage inductif (EPA-6020) décrite par la US EPA. Les concentrations de HAP et de BPC (mélanges d'Arochlor^{MC}) ont été mesurées, respectivement, par chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection par spectrométrie de masse (EPA-8270) et par détecteur de capture des électrons couplé à la chromatographie en phase gazeuse (EPA-8080) (US EPA, 1986). Tous les résultats de dosage chimique sont rapportés en fonction du poids sec de sédiments.

6.2.3 Bioessais

Les essais de toxicité réalisés dans le cadre de cette étude sont présentés au Tableau VI.1. Dans le cas de la Série A d'échantillons, les bioessais ont été réalisés avec des bactéries (*Vibrio fischeri*), des cnidaires (*Hydra attenuata*), des micro-crustacés (*Thamnocephalus platyurus*), et des macro-invertébrés benthiques (*Hyalella azteca* et *Chironomus riparius*), et impliquaient deux phases sédimentaires (eau interstitielle et sédiment entier).

Dans le cas de la Série B, cinq bioessais ont été menés avec des bactéries (*V. fischeri* et *Escherichia coli*), des microphytes (*Selenastrum capricornutum*), des amphipodes (*H. azteca*) et des chironomidés (*C. riparius*), et impliquaient trois phases d'exposition (sédiment humide, extrait organique et le sédiment entier).

Tel que décrit au Chapitre III, l'eau interstitielle a été extraite par centrifugation (3000 rpm, 30 min, 4°C) des sédiments entiers, puis conservée à la noirceur à 4°C et utilisée pour la réalisation des essais dans les 72 h qui ont suivi l'extraction. Les extraits

organiques ont été obtenus selon la méthode décrite à la § 4.3.2. Seules les fractions F2 ont été utilisées pour la réalisation des bioessais, tel que recommandé au Chapitre IV.

Tableau VI.1 : Conditions bioanalytiques employées et références bibliographiques

Essais de toxicité ^a Espèces	Paramètre d'effet	Test phase ^b	Test duration	Paramètre de toxicité ^c	Nombre de répétitions ^d	Série(s) d'échantillons	Références bibliographiques ^e
BACTERIES							
Microtox [®] <i>Vibrio fischeri</i>	Inhibition de la lumière	EI	15 min	CI ₅₀	4	1,2	EC, 1992a
Microtox [®] SPT <i>Vibrio fischeri</i>		SH	20 min	CI ₅₀	2	1,2	Microbics Corp., 1992
SOS Chromotest <i>Escherichia coli</i> PQ37	Génotoxicité	EO	2 h	CMEO	4	2	Quillardet <i>et al.</i> , 1982
MICRO-ALGUES							
<i>Selenastrum capricornutum</i>	Inhibition des estérases	SH	24 h	CI ₅₀	3	2	Blaise et Ménard, 1998
Micro-crustacé ThamnotoxKit [®] <i>Thamnocephalus platyurus</i>	Survie	EI	24 h	CL ₅₀	3	1	Microbiotests, Inc. (www.microbiotests.be)
CNIDAIRES <i>Hydra attenuata</i>		EI	96 h	CSE	3	1	Trottier <i>et al.</i> , 1997
MACRO-INVERTEBRES							
<i>Hyalella azteca</i>		SE	14 j	% survie	5	1,2	EC, 1997c
<i>Chironomus riparius</i>		SE	10 j	% survie	5	1,2	EC, 1997d

^a SPT: Test en phase solide-humide.

^b EI: eau interstitielle; EO: extrait organique; SE: sédiment entier; SH: sédiment humide.

^c CI₅₀: concentration qui réduit la fonction biologique d'intérêt de 50%; CL₅₀: concentration qui réduit la survie de 50% de la population exposée; CSE: concentration seuil d'effet, représentant la moyenne géométrique de la concentration-sans-effet-observé (CSEO) et de la concentration-d'effet-minimal-observé (CMEO).

^d Nombre de répétitions pour un échantillon donné de sédiments.

^e Les méthodes sont décrites en détails à l'Annexe 1.

6.2.4 Communautés Benthiques

Les effectifs pour les taxons de Nematoda, Annelida, Hydracarina, Harpacticoida, Ostracoda, Gammaridae, Amphipoda, Isopoda, Trichoptera, Ephemeroptera, Odonata, Lepidoptera, Ceratopogonidae, Chironomidae, Psychodidae, Gastropoda et Pelecypoda ont été déterminés à 4 sites (3-1, 3-2, 4-7, et 4-8) de la Série A et à tous les sites de la Série B. Les données ont permis de calculer quatre mesures benthiques : la richesse en espèces (nombre total d'espèces), l'indice EPT (nombre de taxons appartenant aux ordres Ephemeroptera, Plecoptera, et Trichoptera), l'indice de diversité Shannon-Wiener (H'), et une version modifiée de l'ICI-SL (voir la description générale de cet indice fournie en § 2.2.1; Willsie, 1993a, b).

L'indice EPT fournit un sommaire de la richesse en taxons chez les ordres d'insectes qui sont généralement considérés comme étant sensibles à la contamination. L'indice H', le plus connu des indices de diversité, et a été amplement utilisé pour des travaux en milieu aquatique, particulièrement sur des macro-invertébrés (e.g. Wilhm et Dorris, 1966; Wilhm, 1967; Engle *et al.*, 1994; Qinghong, 1995; Wildhaber et Schmitt, 1996). Bien que l'adéquation de plusieurs de ces indices a été le sujet de maints débats, Washington (1984) soutient que l'indice Shannon-Wiener devrait être utilisé de préférence jusqu'à ce que des indices plus appropriés auront été testés de façon compréhensive.

L'Indice ICI-SL est un indice multi-métrique qui reflète le degré de divergence d'assemblages spécifiques de macro-invertébrés par rapport à des valeurs optimales représentatives de conditions relativement non contaminées du fleuve Saint-Laurent (Willsie, 1993a, b). Dans le cadre d'une étude d'évaluation de la capacité de cet indice à discriminer des sites contaminés, Pinel-Alloul *et al.* (1996) ont démontré que quatre des neuf métriques qui composaient l'indice original étaient suffisants pour prédire le niveau de contamination des sédiments à l'étude. Ces métriques sont : le nombre total de taxons (M1), le nombre de taxons de *Diptera* (M4), l'abondance relative des *Trichoptera* (M6), et l'abondance relative de taxons relativement tolérant de la pollution tels que les chironomides, tubificides, gastéropodes et autres groupes taxonomiques (M9) (Willsie, 1993a,b). Le Tableau VI.2 rassemble l'ensemble des valeurs des quatre paramètres M1, M4, M6 et M9 sous quatre valeurs seuils (ou scores) représentant

différents niveaux de qualité des sédiments. Dans ce tableau, les valeurs seuils sont celles établies par Willsie (1993a,b).

Tableau VI.2 : Valeurs associées aux paramètres de qualité de communautés benthiques et scores correspondants

Scores	M1 Nombre total de taxons	M4 Nombre de taxons de <i>Diptera</i>	M6 Abondance relative de <i>Trichoptera</i> (%)	M9 Abondance relative de taxons tolérants (%)
0	N < 17	N ≤ 1	% < 1	% ≥ 63
2	17 ≤ N < 24	1 < N ≤ 3	1 ≤ % < 2	42 ≤ % < 63
4	24 ≤ N < 33	3 < N ≤ 7	2 ≤ % < 4	22 ≤ % < 42
6	N ≥ 33	N ≥ 8	% ≥ 4	% < 22

L'Indice ICI-SL est calculé en faisant la somme des scores obtenus pour les quatre mesures (M1, M4, M6 et M9). Il varie entre 0 (impact significatif sur la communauté benthique exposée) et 24 (aucun impact ou impact minimal sur la communauté benthique (Willsie, 1993a,b).

6.3 ANALYSES DES RÉSULTATS

Les indices SED-TOX ont été calculés selon la méthode décrite au chapitre 3 et corrélés (corrélations de Pearson) avec les mesures de communautés benthiques et les concentrations chimiques (SAS Institute Inc., 1988). Les concentrations chimiques ont été exprimées sous forme de ratio:

$$\text{Ratio de concentration} = \frac{C_i}{SEN_i} \quad (6)$$

où C_i est la concentration mesurée du contaminant i dans l'échantillon m , et SEN_i est celle du contaminant i reconnue nocive pour la plupart des organismes vivants (EC et MENV, 1992). Pour les HAP, le seuil sans effet (SSE; EC et MENV, 1992) a été utilisé pour le calcul du ratio puisque aucun SEN n'a été dérivé pour ce groupe de contaminants. Les ratios ont ensuite été soumis à des transformations logarithmiques afin de les normaliser.

6.4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

6.4.1 Analyses chimiques

Les teneurs en HAP, BPC et métaux lourds sont présentés au Tableau VI.3.

Série A :

Tel que postulé, les sédiments de référence (1-3B et 4-8), ainsi que l'échantillon témoin négatif (2-1B) ont montré des niveaux de contamination sous les seuils d'effets toxiques définis par EC et MENV (1992). En contrepartie, des teneurs élevées en HAP (> SET) ont été mesurées dans tous les échantillons de sédiments localisés dans la portion est du port de Montréal (2-2A, 2-5B, 2-6B, 3-1, 3-3, et 4-7), où l'activité industrielle est importante, ainsi que dans l'échantillon témoin positif (2-1A). Dans une moindre mesure, les concentrations en HAP dans l'échantillon 3-2 ont aussi dépassé les SETs. De plus, les échantillons 2-2A, 3-3, et 4-7 ont présenté une contamination importante en BPC (> SET). Pour la plupart des échantillons, les métaux lourds étaient sous les limites de détection, à l'exception du zinc qui était relativement élevé dans les sédiments 4-6, 2-1A et 2-2A, et du cuivre mesuré en concentration élevée dans l'échantillon 2-6B.

Série B :

Les HAP et les métaux lourds (Cd, Cr, Cu, et Zn) ont été mesurés en concentrations supérieures au SET dans tous les échantillons de la Série B, à l'exception du sédiment de référence.

6.4.2 Bioessais

Les résultats des bioessais sont présentés au Tableau VI.4 et un exemple de calcul de l'Indice SED-TOX est présenté à l'Annexe 3 (voir partie B). Pour le SOS Chromotest réalisé avec les échantillons de la Série B, seuls les résultats obtenus avec les extraits bruts et avec activation métabolique sont présentés. En effet, aucune activité n'a été notée en l'absence de S9 et les fractions ont donné des résultats similaires pour ces échantillons.

Tableau VI.3 : Sommaire des concentrations chimiques^a mesurées dans les échantillons de sédiments

Site	CQS - SET ^d	HAP ^b			Cadmium	Chrome	Cuivre	Zinc	Ratio de concentration ^e
		BPCs ^c	PMF	PME					
		1.00	0.10	1.00	3.00	100.00	86.00	540.00	
Série A									
1-1A		0.05	0.05	0.05	0.50	4.00	8.00	110.00	0.145
1-2A		0.05	0.05	0.05	0.50	11.00	28.88	240.00	0.233
1-3B (référence)		0.05	0.05	0.05	0.50	14.00	27.00	240.00	0.239
1-5B		0.05	0.05	0.05	2.00	15.00	25.00	210.00	0.284
1-6B		0.05	0.05	0.05	1.00	11.00	23.00	159.00	0.217
2-1A (témoin positif)		0.05	52.50	155.00	2.00	41.00	27.00	1130.00	76.084
2-1B (témoin négatif)		0.05	0.05	0.05	0.50	11.00	13.00	52.00	0.155
2-2A		1.90	15.55	11.30	3.00	82.00	37.00	620.00	19.280
2-5B		0.80	3.75	10.10	1.00	48.00	82.00	187.00	5.721
2-6B		0.70	4.15	6.25	3.00	100.00	142.00	330.00	5.992
3-1		0.35	2.53	9.39	0.45	10.70	8.61	65.50	3.972
3-2		0.15	1.13	2.22	0.34	5.50	10.22	39.29	1.574
3-3		1.60	8.41	37.21	1.36	9.69	19.02	114.86	13.815
4-6		0.08	0.23	0.50	1.67	7.31	20.99	7367.72	1.958
4-7		1.60	8.41	37.20	1.36	9.69	19.00	115.00	13.814
4-8 (référence)		0.05	0.05	0.05	0.50	14.00	27.00	240.00	0.239
Série B									
LSL (référence)		n.m. ^f	0.05	0.40	2.60	62.90	55.70	408.00	0.597
PBR		n.m.	13.85	33.19	2.40	24.80	214.00	529.00	22.136
FC-10		n.m.	13.58	14.64	2.00	46.30	139.00	366.00	19.358
SH-2		n.m.	3.43	6.47	3.80	188.00	2020.00	748.00	8.852
SP-17		n.m.	1.54	4.50	3.90	62.50	217.00	770.00	3.371

^a Unités présentés en µg/g. Les concentrations chimiques sous le seuil de détection sont représentées comme étant équivalentes à la moitié de la valeur correspondant au seuil de détection.

^b HAP: hydrocarbures aromatiques polycycliques; PMF : concentration totale en HAP de faible poids moléculaire; PME: concentration totale en HAP de poids moléculaire élevé.

^c Concentration totale en biphényles polychlorés : mélanges d'Aroclor® (1248, 1254, 1260).

^d CQS, Critère de qualité des sédiments (EC et MENV, 1992); SET, "seuil d'effet toxique". Seul le "seuil sans effet" est défini pour les HAP (EC et MENV, 1992).

^e Moyenne des ratios des concentrations mesurées pour chacun des contaminants individuels dans un échantillon par rapport au CQS, calculée comme suit : $\text{Ratio} = C/SET$ où C est la concentration mesurée du contaminant i dans l'échantillon m, et SET est le seuil d'effet toxique défini pour le contaminant i.

^f Non mesuré.

Tableau VI.4 : Sommaire des résultats bioanalytiques et indices SED-TOX obtenus

Echantillons	Bioessais								SED-TOX
	EI			EO	SH		SE		
	<i>Thamnotox</i>	<i>Hydra</i>	Microtox®	SOS	Microtox®	Algues	<i>Chironomus</i>	<i>Hyalella</i>	
	CL ₅₀	CSE	CSE	CME0	CI ₅₀	CI ₅₀	% survie	% survie	
% v/v	% v/v	% v/v	g sec/L	g sec/L	% p/v	% survie	% survie		
Série A									
1-1A	> 100.0	35.4	8.8	n.m. ^c	n.m.	n.m.	90.0	86.0	0.65
1-2A	> 100.0	17.7	17.7	n.m.	n.m.	n.m.	90.0	97.5	0.81
1-3B (référence)	> 100.0	> 100.0	8.8	n.m.	n.m.	n.m.	82.0	100.0	0.69
1-5B	97.0	> 100.0	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	80.0	80.0	0.45
1-6B	> 100.0	> 100.0	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	43.0	90.0	1.56
2-1A (témoin positif)	19.9	4.4	17.7	n.m.	n.m.	n.m.	54.0	26.0	1.90
2-1B (témoin négatif)	> 100.0	17.7	17.7	n.m.	n.m.	n.m.	100.0	92.0	0.85
2-2A	> 100.0	8.8	4.4	n.m.	n.m.	n.m.	0.0	0.5	2.30
2-5B	9.2	17.7	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	14.0	2.0	2.21
2-6B	> 100.0	8.8	8.8	n.m.	n.m.	n.m.	24.0	0.5	2.19
3-1	44.2	17.7	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	14.0	20.0	2.15
3-2	> 100.0	17.7	> 100.0	n.m.	n.m.	n.m.	90.0	88.0	0.58
3-3	22.7	4.4	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	0.0	32.0	2.18
4-6	14.0	35.4	17.7	n.m.	n.m.	n.m.	0.0	0.5	2.27
4-7	20.7	4.4	35.4	n.m.	n.m.	n.m.	12.0	44.0	2.06
4-8 (référence)	> 100.0	> 100.0	17.7	n.m.	n.m.	n.m.	92.0	78.0	0.55
Série B									
LSL (référence)	n.m.	n.m.	n.m.	> 20.0	1.4	> 10.0	78.0	74.0	1.52
PBR	n.m.	n.m.	n.m.	0.3	2.9	> 10.0	74.0	100.0	1.15
FC-10	n.m.	n.m.	n.m.	0.6	0.4	> 10.0	36.0	26.0	2.37
SH-2	n.m.	n.m.	n.m.	0.3	1.5	> 10.0	26.0	22.0	2.20
SP-17	n.m.	n.m.	n.m.	0.2	1.8	2.5	0.0	0.0	2.31

n.m. : non mesuré.

CL_p : concentration létale pour un pourcentage donné des organismes d'essais; CSE : Concentration seuil d'effet; CME0 : concentration minimale avec effet observé. CI_p : concentration qui produit un niveau donné d'effet.

Tel qu'anticipé, les espèces n'ont pas répondu de façon uniforme à une exposition aux échantillons de sédiments. La bactérie *V. fischeri* est la seule qui a révélé la présence de substances toxiques dans les échantillons de référence : les scores SED-TOX étaient de 0,55, 0,69 et 1,52 respectivement pour les échantillons 4-8, 1-3B et LSL. Le témoin négatif (2-1B) a également répondu positivement à l'essai Microtox (sur l'eau interstitielle). Ces résultats sont surprenants et semblent témoigner de la grande sensibilité du Microtox qui limite son potentiel de discrimination entre les sites contaminés et les sites de référence. Ces résultats suggèrent que l'utilité du Microtox pour l'évaluation de la toxicité attribuable à l'eau interstitielle devrait être étudiée davantage. Ce potentiel limité de l'essai Microtox pour cette phase sédimentaire a été rapporté par Blaise et Ménard (1998), qui ont postulé que la présence de sulfures pouvait confondre les réponses bioanalytiques.

Par ailleurs, les échantillons qui se sont révélés toxiques dans tous les bioessais ont obtenu des indices SED-TOX qui approchaient ou dépassaient une valeur de 2,0. C'était le cas pour plusieurs échantillons de la Série A (2-1A, 2-5B, 3-1, 3-3, 4-6, et 4-7), ainsi que l'échantillon SP-17 de la Série B. Les échantillons 2-2A, 2-6B, FC-10, et SH-2 se sont avérés toxiques (cinq réponses positives sur six bioessais réalisés), résultant en des indices SED-TOX supérieurs à 2,0. Ces indices élevés s'expliquent par l'intensité de la réponse et/ou parce que la toxicité a été notée pour toutes les phases d'exposition utilisées. Comparons par exemple les échantillons 2-2A et 2-5B: bien que ce dernier se soit avéré toxique pour tous les organismes exposés, les réponses notées avec le premier étaient généralement plus sévères. En effet, la mortalité chez *H. azteca* était maximale pour l'échantillon 2-2A, comparée à 86% pour l'échantillon 2-5B, et les réponses toxiques étaient respectivement de 2 à 8 fois supérieures chez *H. attenuata* et *V. fischeri*, avec l'échantillon 2-2A.

A l'exception du sédiment de référence LSL, tous les échantillons de la Série B se sont avérés génotoxiques. Cette observation n'est pas surprenante compte tenu que les teneurs en HAP de ces échantillons étaient supérieures aux SETs (EC et MENV, 1992). Par ailleurs, à l'exception des échantillons PBR et LSL, ces sédiments se sont

avérés létaux envers *H. azteca* et *C. riparius*. Ces résultats expliquent donc les indices élevés obtenus avec les échantillons FC-10, SH-2, et SP-17. Tel qu'illustré à la Figure VI.2, tous les échantillons ayant obtenu un indice SED-TOX supérieur à 2,0 se sont avérés toxiques (survie < 69%) pour *C. riparius* and *H. azteca*. Pour les échantillons témoignant d'un indice modéré (i.e., entre 1,0 et 1,9), certains ont significativement réduit la survie des micro-invertébrés (i.e., 1-6B et 2-1A), alors que d'autres (PBR et LSL) n'ont montré aucun effet néfaste chez ces organismes. Ces résultats sont surprenants pour 1-6B car les niveaux de contamination pour les paramètres chimiques étudiés étaient tous sous les SET. L'absence de concordance entre des résultats chimiques et bioanalytiques n'est toutefois pas unique à cette étude. Maints auteurs ont rapporté un manque de concordance entre ces deux lignes d'évidence dans le cas d'échantillons complexes tels que des sédiments prélevés sur le terrain (e.g., Long *et al.*, 1990; Day *et al.*, 1995). C'est l'une des raisons justifiant l'utilisation d'une batterie bioanalytique faisant appel à un nombre d'espèce dont la sensibilité aux contaminants varie, ce qui constitue une approche prudente et souhaitable pour bien ausculter l'environnement hydrique (e.g., Dutka and Kwan, 1982, 1988; Giesy *et al.*, 1988a, b; Giesy and Hoke, 1989; Giesy *et al.*, 1990; Luoma and Ho, 1993; Burton *et al.*, 1996).

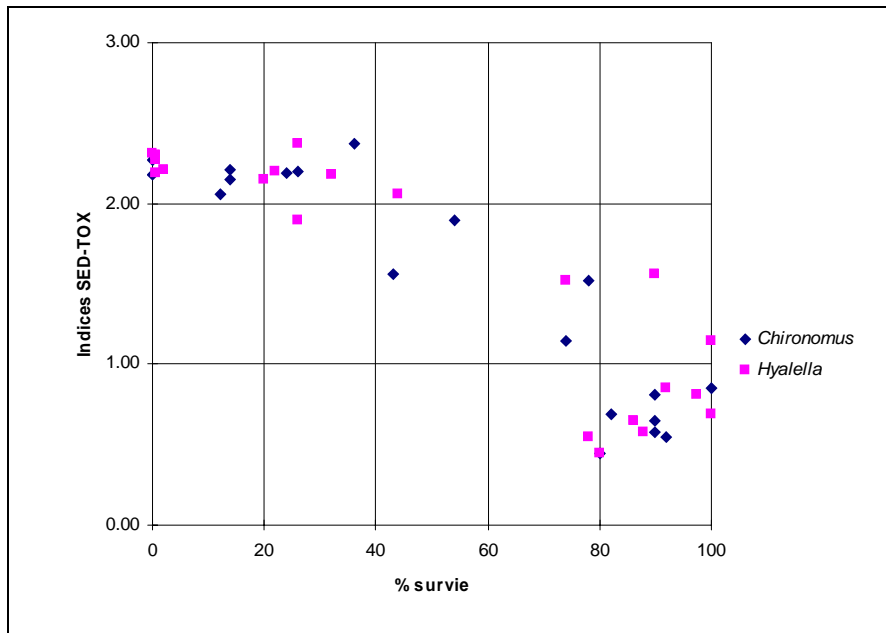


Figure VI.2 : Relation entre les incidences de survie chez les amphipodes et chironomes et les indices SED-TOX

6.4.3 Communautés benthiques

La composition des communautés benthiques a varié d'un site à l'autre (Tableau VI. 5). Dans le cas de la Série A, le site de référence s'est distingué de façon marquée des trois sites localisés à l'intérieur ou à proximité du Port de Montréal (i.e., 3-1, 3-2 et 4-7). La communauté benthique au site 4-8 était principalement composée de gastéropodes (33% de l'abondance total), diptères et chironomides (24%), ostracodes (11%), pélécy-podes (6%), et amphipodes-*Gammarus* (5%). Parmi les gastéropodes, les espèces les plus abondantes étaient *Valvata tricarinata* (23%), *Amnicola limosa* (4%) et *Bithynia tentaculata* (5%), alors que parmi les diptères, ce sont les espèces de Chironominae (Tribelos: 6% et Pseudochironomus: 7%) qui étaient les plus nombreuses. Les gastéropodes prosobranches (tels que *Aulodrilus piqueti* et *Amnicola limosa*), les trichoptères (tels que *Ceraclea*, *Mystacides*, *Necropsyche* et *Polycentropus*) ont presque exclusivement été observés au site de référence (i.e., 1-3B), indiquant la présence de communautés relativement non perturbées. Par ailleurs, la faune benthique aux sites 3-1, 3-2 et 4-7 était dominée par les tubificides tels que *Limnodrilus hoffmeisteri*, *Quistadrilus multisetosus*, des organismes immatures dépourvus de poils (75–92%), et des représentants de Pelecypoda-Dresseinidae (3–17%).

Tableau VI.5 : Résultats obtenus à partir des mesures de communautés benthiques^a

Site	Richesse	H'	EPT	ICI-SL				
				M1	M4	M6	M9	M1,M4,M6,M9
Série A								
3-1	19 (13–20)	2.44 (1.92–3.08)	5 (4–6)	0–2	2–6	0	0	5 (2–6)
3-2	15 (9–19)	1.63 (1.37–1.83)	3 (3–4)	0–2	2–4	0	0	5 (2–8)
4-7	13 (12–14)	2.16 (2.02–2.32)	3 (3–4)	0	2	0	0	2 (2)
4-8 (référence)	39 (33–39)	3.86 (3.72–4.03)	8 (7–8)	6	6	4–6	4	21 (20–22)
Série B								
LSL (référence)	25 (21–29)	3.49 (3.34–3.64)	4 (2–5)	2–4	4	0–4	6	15 (12–18)
PBR	19 (17–21)	2.84 (2.56–3.12)	1 (0–1)	2	4–6	0	0–2	7 (6–8)

FC-10	22 (21–23)	3.13 (2.79–3.47)	2 (1–2)	2	2	0–2	0–2	6 (4–8)
SH-2	10 (7–13)	1.84 (1.56–2.13)	0 (0)	0	0	0	0	0 (0)
SP-17	14 (12–16)	3.04 (2.52–3.04)	1 (0–1)	0	4	0	0	4 (4)

^a Les données représentent des moyennes; les gammes de valeurs observées sont indiquées entre parenthèses.

Tel que pour la Série A, la communauté benthique au site de référence (LSL) de la Série B différait substantiellement de celles observées aux sites contaminés (i.e., PBR, SH-2, FC-10 et SP-17). Quatre taxons distincts (*Hydra*, Sparganophilidae, Ephéméroptères - *Hexagenia* et Heptageniidae, et Empididae - *Hemerodromia*) ont été retrouvés au site de référence, alors que les tubificides, qui étaient abondants à tous les sites contaminés (entre 20–80%), étaient relativement rares au site LSL (4%). Un nombre plus important de *L. hoffmeisteri* a été noté aux sites SH-2 (14%) et FC-10 (8%), suggérant un enrichissement organique supérieur et un niveau de perturbation écologique plus élevé à ces sites. Les tubificides sont reconnus comme étant des indicateurs utiles d'enrichissement organique (Goodnight et Whitley; 1960; Washington, 1984). Les pélécytopodes étaient abondants (15–34%) à tous les sites, et les chironomes, à deux d'entre eux (PBR et SP-17).

Dans les deux séries d'échantillonnage, la richesse totale, l'indice H', l'indice EPT, et le ICI-SL étaient plus élevés aux sites de référence (Tableau VI.4). L'ICI-SL (i.e., la somme des métriques M1, M4, M6 et M9) s'est avéré être l'indice le plus discriminant des quatre. Cette caractéristique importante était surtout attribuable au métrique M9 qui a nettement établi une différence entre les sites de référence (dont les scores variaient entre 4 et 6) et les sites contaminés (dont les scores s'approchaient ou équivalaient à zéro).

6.4.4 Relation entre les résultats chimiques et bioanalytiques

Les indices SED-TOX ont été comparés aux résultats des analyses chimiques (tel qu'exprimés en ratio de concentrations (voir § 6.3; Figure VI.3).

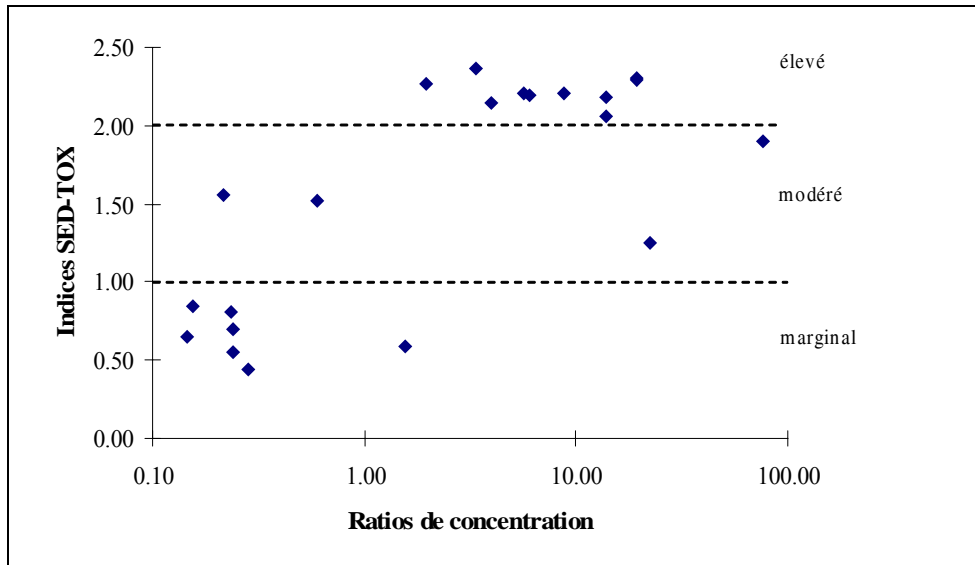


Figure VI.3 : Relation entre les niveaux de contamination chimique et les indices SED-TOX ($r^2=0,74$; $p < 0,0001$).

Les sites caractérisés par un indice SED-TOX élevé (≥ 2.0) avaient des ratios de concentration supérieurs à 1 (i.e., indiquant que les teneurs en contaminants étaient supérieures aux seuils d'effets néfastes définis par EC et MENV, 1992). Par ailleurs, 70% des sites avec un indice SED-TOX supérieur à 2,0 ont obtenu un ratio de concentration supérieur à 5, alors que 86% des sites avec un indice SED-TOX marginal (0,1-0,9) avaient un ratio de concentration inférieur à 1. Ainsi, pour les sites avec un indice SED-TOX élevé, une corrélation significative a été notée entre les niveaux de contamination et les indices SED-TOX ($r^2 = 0.74$, $p < 0.0001$). Bien que cette relation ne constitue pas en elle-même une évidence de causalité, elle suggère néanmoins que les congénères de BPC, de HAP et de métaux lourds ont contribué à la toxicité des sédiments.

La relation entre les ratios de concentration et les indices SED-TOX n'était pas aussi évidente dans le cas des sites ayant obtenu des indices modérés (i.e., entre 1,0 et 1,9). En effet, les ratios de concentration ont varié entre 0.21 et 76.08 pour ces échantillons. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées. D'abord, la toxicité observée avec les échantillons ayant démontré de faibles ratios de concentrations pourrait être due à des substances non mesurées telles que l'azote ammoniacal, les sulfures, etc. Il se pourrait aussi que les contaminants s'y trouvant ne soient pas

biodisponibles, i.e., qu'ils seraient fortement associés aux particules de sédiments, ou de la matière organique. Ou encore, que les espèces utilisées dans les bioessais ne sont pas très sensibles aux mélanges de contaminants qui caractérisent ces sédiments. Ces résultats supportent la thèse selon laquelle une approche prudente pour évaluer la qualité des sédiments consiste à combiner plusieurs types d'évidence (tels que les analyses chimiques et les bioessais).

6.4.5 Relation entre les mesures bioanalytiques et benthiques

La dégradation du benthos, tel que suggérée par l'indice H', la richesse, l'indice EPT, et l'ICI-SL a été examinée à la lumière des indices SED-TOX obtenus pour les huit sites ou ces deux lignes d'évidence ont été étudiées.

La Figure VI.4 présente sous forme graphique la relation entre les indices de communauté benthique mesurés et les scores SED-TOX. Bien que la relation ne soit pas statistiquement significative ($r = 0.62$, $p = 0.07$), l'ICI-SL a montré la corrélation la plus forte avec l'Indice SED-TOX. Mises à part quelques exceptions (i.e., les sites faiblement contaminés 3-2 et PBR, le potentiel de danger toxique augmentait en fonction d'un indice ICI-SL décroissant (suggérant une dégradation de la qualité du benthos). En effet, les indices SED-TOX élevés étaient toujours associés à des scores faibles sur l'échelle de l'ICI-SL (< 8). Il est probable que la faible qualité du benthos notée aux sites de référence 3-2 et PBR, tous deux localisés dans le port de Montréal, soit attribuable à des altérations physiques de l'habitat causées par la navigation et autres activités humaines. De tous les sites étudiés, c'est le site de référence 4-8 qui a montré le plus faible indice SED-TOX et la plus forte valeur ICI-SL, suggérant ainsi un faible niveau de stress écologique.

En contrepartie, trois des sites fortement contaminés (SH-2, SP-17 et 4-7) ont montré une communauté benthique dégradée alors que deux autres sites (3-1 et FC-10) se sont avérés modérément dégradés, si on se base sur l'indice de la richesse. Les indices H' et EPT indices se sont avérés les moins efficaces à discriminer les sites entre eux sur la base de la qualité du benthos. Mise à part une exception (4-8, site localisé sans une zone faiblement contaminée du Lac Saint-François), tous les sites se sont avérés dégradés sur la base de l'indice EPT, alors que

les sites FC-10 et SP-17, tous deux fortement contaminés se sont révélés « propres » selon l'échelle de l'indice H'.

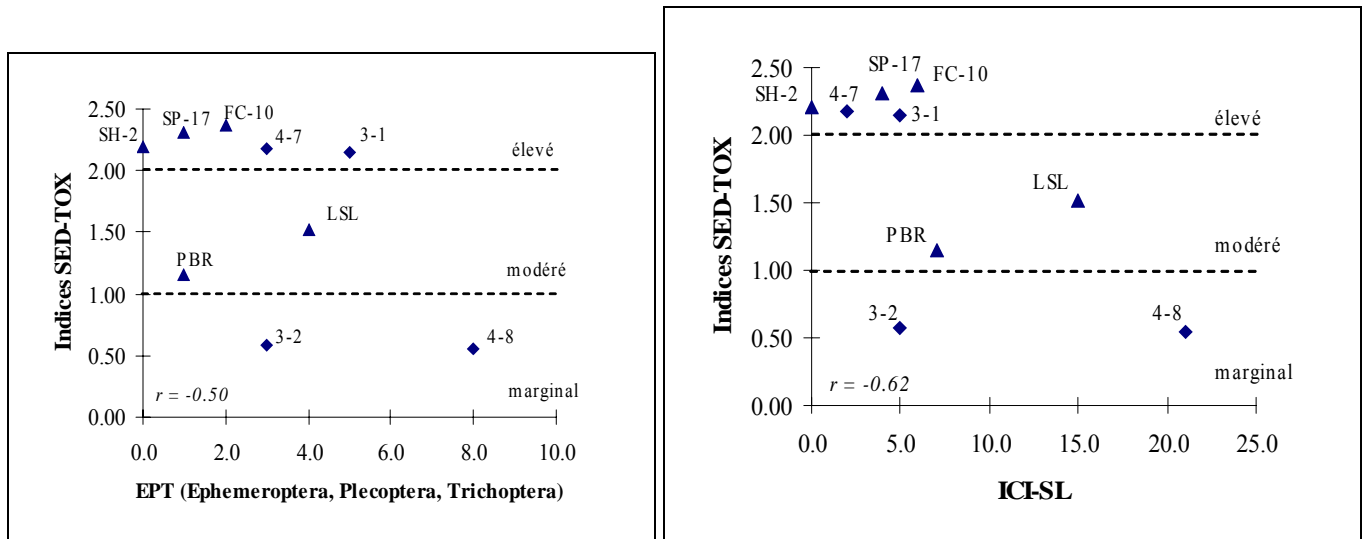
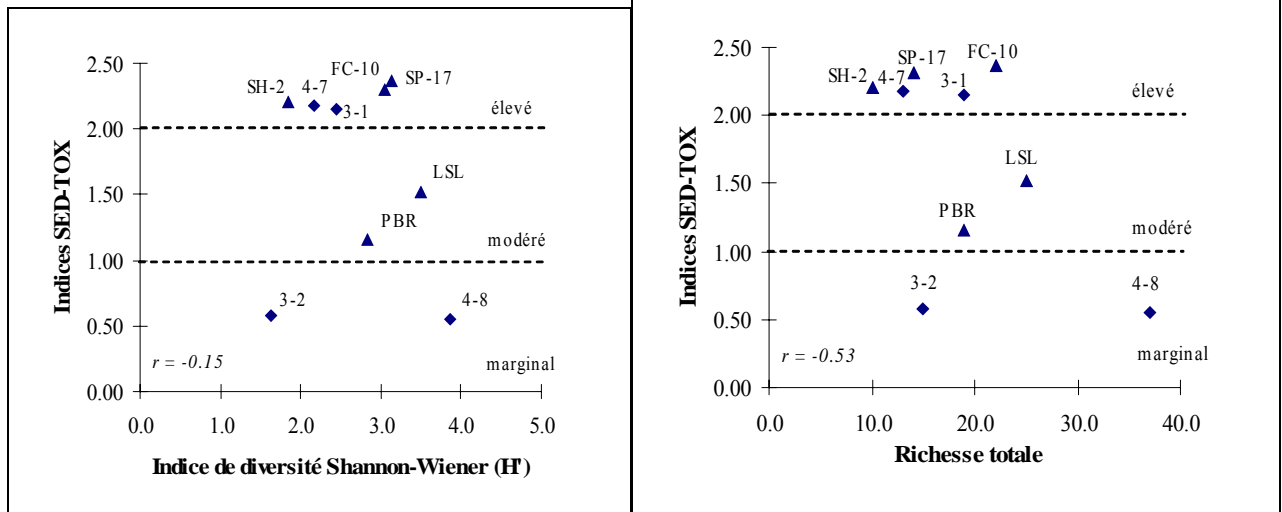


Figure VI.4 : Relation entre les indices SED-TOX et les indices de qualité du benthos.

Il est intéressant de constater que les sédiments PBR (port de Montréal) et LSL (sédiment de référence dans le Lac Saint-Louis) se classent tous deux dans la catégorie de toxicité modérée (i.e., indice SED-TOX situé entre 1 et 2), le LSL dépassant légèrement PBR (indices SED-TOX de 1,52 et 1,15, respectivement), mais PBR montre systématiquement une communauté benthique de moindre qualité que LSL. Il est possible que des contaminants autres que ceux mesurés dans le cadre de cette étude (par ex. des organoétains), ou que des facteurs autres que la contamination chimique ait contribué à la dégradation du benthos à la station PBR. En effet, cette station étant située dans le port de Montréal, il est concevable qu'elle soit soumise à des perturbations physiques importantes en raison d'activités de navigation ou autres activités humaines. Ces perturbations pourraient affecter l'habitat des communautés benthiques qui s'y trouvent. Les stations 3-2 et 4-8 montrent également des résultats intéressants: toutes deux ont obtenues un indice SED-TOX faible (0,58 et 0,55, respectivement), mais la station 3-2, prélevée dans le port de Montréal, a montré une communauté benthique nettement plus dégradée. Enfin, à la lumière de ces résultats, il apparaît que la station de référence LSL, qui nous avait été recommandée pour cette étude, n'était pas pertinente en raison des réponses toxiques et biologiques obtenues.

6.5 CONCLUSION

Les résultats démontrent qu'il n'y a pas toujours adéquation entre l'effet prédit par les seuils d'effets toxiques (SET) et le potentiel toxique tel qu'observé avec les bioessais et relativisé à l'aide de l'indice SED-TOX. Ceci est particulièrement vrai pour les sédiments dont le potentiel toxique est modéré. Ces résultats suggèrent que les effets observés ne sont pas la simple résultante d'une sensibilité à un ou des contaminants précis mais plutôt à une exposition à des mélanges complexes où la nature et la quantité des contaminants, ainsi que les caractéristiques intrinsèques de la matrice sédimentaire, interviennent. Ces résultats supportent l'utilisation d'une batterie de bioessais dans l'évaluation de la qualité des sédiments. Cette étude a également permis de démontrer une certaine concordance entre les indices SED-TOX et les indices de qualité du benthos, et plus particulièrement avec l'indice ICI-SL. En effet, les scores SED-TOX étaient généralement plus élevés aux sites démontrant un score ICI-SL plus faible. Ces résultats indiquent que l'utilisation conjointe du SED-TOX et des mesures *in situ* sur la qualité du benthos

augmentent les chances de détecter et discriminer des sites selon leur potentiel d'impact sur des organismes des communautés exposées.

CHAPITRE SEPT

CONCLUSION

7.1 SYNTHÈSE DES RÉSULTATS

Plusieurs bioessais normalisés ont été développées pour évaluer la qualité de sédiments marins et dulçaquicoles. Bien que ces méthodologies aient fait progresser la recherche dans ce domaine, notamment dans l'élaboration de nouveaux tests plus avantageux sur le plan coût-efficacité, leurs utilisateurs ont souvent exprimé le besoin d'avoir accès à des outils scientifiquement défendables qui permettent une prise de décision simple et éclairée. En effet, les gestionnaires de risques doivent pouvoir relativiser les sites d'intérêt en fonction de leur degré de dangerosité et de l'étendue géographique de leur contamination en les comparant aux conditions de référence, ce qui permet ensuite de prioriser les activités de gestion. Les outils à leur disposition doivent donc être suffisamment sensibles pour discerner divers niveaux de danger ainsi que leurs écarts par rapport à des valeurs de référence. L'indice SED-TOX a été développé dans l'optique de répondre à ces besoins.

Notre objectif principal visait à évaluer la possibilité de développer un indice écotoxique permettant de discriminer, classer et prioriser des sites selon l'ampleur du danger représenté pour des organismes aquatiques, et d'évaluer sa pertinence écologique par comparaison à des mesures de terrain. Notre démarche d'élaboration de l'Indice portait sur l'examen des trois aspects suivants:

- * Son potentiel de discrimination: l'Indice permet-il de distinguer les sites pollués de ceux relativement exempts de contaminants?
- * Sa flexibilité: l'Indice est-il applicable à divers types de sédiments, qu'ils soient d'origine dulçaquicole ou marine, et avec des batteries bioanalytiques différentes?
- * Son potentiel prédictif: comment se compare l'Indice avec des perturbations (de populations/communautés?) mesurées sur le terrain?

Tout d'abord, nous avons identifié les bioessais pressentis pour la batterie qui servirait de base au développement de l'Indice. Il importait que cette batterie couvre une variété de phases sédimentaires (eau interstitielle, extrait organique, phase solide-humide, et sédiment entier), de niveaux trophiques (bactéries, algues, micro-invertébrés), de type (aigu et chronique) et de niveaux (léta, subléta) de toxicité, afin d'en maximiser la sensibilité, le potentiel de discrimination, et la pertinence écologique. Nous avons constaté, en dépit du nombre d'essais pouvant être réalisés sur des extraits aqueux (e.g., eau interstitielle, éluviats, extraits organiques) de sédiments, que leur adéquation pour une utilisation en routine sur des extraits organiques n'avait pas été clairement démontrée. Nous avons donc élaboré une procédure d'extraction, de concentration et de fractionnement organique que nous avons couplée à trois essais de génotoxicité (SOS Chromotest^{MC}, Mutatox et fluctuation) dans le but de proposer une méthode efficace pour évaluer les effets associés aux contaminants organiques sur l'ADN des organismes exposés. Nos travaux ont démontré que lorsqu'il est appliqué à des sédiments présentant un gradient de contamination organique, le SOS Chromotest^{MC} réalisé sur la fraction F₂ s'avérait le plus sensible et le plus discriminant des trois essais examinés.

En deuxième lieu, nous avons appliqué la batterie d'essais, incluant le SOS Chromotest^{MC}, sur des échantillons de sédiments marins dans le but d'en démontrer l'utilité pour discerner divers niveaux de contamination et d'éclairer les activités de gestion prioritaires. Ces travaux ont démontré que l'Indice permet la mise en évidence d'écarts significatifs entre le potentiel toxique de sédiments dont les niveaux de contamination varient, et d'en dériver des seuils de toxicité dans le but de les classer selon l'importance du danger qu'ils peuvent représenter pour des organismes aquatiques.

Ensuite, nous avons voulu vérifier l'applicabilité du SED-TOX à des sédiments dulçaquicoles, et le valider à partir des dénombrements d'organismes benthiques, ceci afin de vérifier que les résultats de l'Indice pouvaient expliquer des observations faites sur le terrain. Nos résultats ont effectivement démontré que l'Indice SED-TOX est transposable à l'évaluation de sédiments marins. En effet, il a permis de mettre en évidence des différences significatives entre les sites contaminés par des BPC, HAP et métaux lourds, et les sites de référence. Une certaine

concordance a aussi été observée entre les indices SED-TOX et ceux utilisés pour jauger la qualité du benthos. En effet, les scores SED-TOX étaient généralement plus élevés aux sites où la qualité du benthos (telle que révélée par l'indice ICI-SL) s'avérait plus faible. Ainsi, il apparaît que l'utilisation conjointe du SED-TOX et des mesures *in situ* sur la qualité du benthos permet de mieux classer des sites selon leur potentiel d'impact sur des organismes des communautés exposées.

7.2 PERSPECTIVES D'AMÉLIORATIONS POSSIBLES

Ces travaux auront permis de démontrer que l'Indice SED-TOX est un outil de prise de décision efficace, sensible et discriminant pour l'évaluation et la gestion des sédiments contaminés. Il importe cependant de préciser qu'il nécessiterait davantage de raffinement afin d'être éventuellement applicable en routine pour l'évaluation du danger de sédiments contaminés. Il faut en outre rappeler que son utilité n'a été démontrée que pour un nombre limité de situations particulières. En effet, le SED-TOX a été appliqué à un faible nombre de sites dulçaquicoles et marins, tous localisés dans l'écosystème du Saint-Laurent. Pour évaluer son adaptabilité et le rendre éventuellement applicable à grande échelle pour divers contextes hydriques, il serait nécessaire d'appliquer l'Indice à un plus grand nombre d'échantillons, de sites représentatifs d'une plus grande variété de caractéristiques physiques, chimiques et biologiques, et de type de sédiments (i.e., dulçaquicoles, marins, côtiers et estuariens). Un plus grand effort d'échantillonnage se traduirait toutefois par des coûts plus élevés, ce qui explique pourquoi ce type d'études est généralement limité à des sites problématiques où la gestion est incontournable. Cette charge de travail pourrait néanmoins être minimisée en rationalisant le plan expérimental en terme de durée, de nombre d'essais, de réplicats et de concentrations testées.

Son pouvoir de discrimination à une variété de contaminants dépend en grande partie de la sensibilité des tests qui le composent. Le choix des bioessais à utiliser est par conséquent primordial dans l'élaboration du plan expérimental d'évaluation écotoxicologique. Il importe que la batterie de tests soit représentative de la variabilité de sensibilité des organismes qui composent la communauté potentiellement affectée sur le terrain. L'application de l'Indice faisant appel à des batteries comportant des essais de bioaccumulation

(comme indicateurs de la biodisponibilité des contaminants) et des mesures de biomarqueurs, particulièrement ceux associés à des aspects populationnels, tel que la reproduction (par ex. induction de vitellogénine, altérations histologiques des gonades, susceptibles d'être affectés par l'exposition à des perturbateurs endocriniens), serait également souhaitable pour en augmenter la sensibilité (réponses précoces), et évaluer des effets plus spécifiques (e.g., au niveau moléculaire, cellulaire ou physiologique).

Par ailleurs, une évaluation plus poussée de l'Indice nécessiterait l'examen de sa répétabilité et une connaissance plus approfondie de la sensibilité des paramètres utilisés dans son calcul. Par exemple, il serait intéressant de voir comment la valeur des constantes du modèle influence la valeur des indices obtenus. L'article intitulé « *The SED-TOX Index: Toxicity-directed management tool to assess and rank sediments based on their hazard – concept and application* » présenté à l'Annexe 5, examine l'effet du paramètre « d » (poids accordé à la fraction organique dans la valeur totale de l'Indice) sur la valeur finale de l'Indice, mais les effets d'autres paramètres (e.g., poids donné aux essais sur sédiments entiers) sur l'estimation globale de danger mériteraient également d'être examinés. Il serait également intéressant d'évaluer la contribution relative de chacune des phases d'exposition et de chacun des bioessais composant la batterie, et d'examiner comment l'indice peut être simplifié, par exemple par i) l'omission de phases moins pertinentes d'un point de vue écologique (i.e., extrait organique); et ii) l'omission d'essais redondants. La réponse à ces questions aurait exigé qu'y soit consacré un effort considérable, lequel dépassait largement les objectifs de cette thèse. En conséquence, nous n'avons pu évaluer de façon approfondie la robustesse de l'Indice que nous proposons.

En conclusion, nous considérons qu'un couplage de l'Indice SED-TOX aux analyses chimiques et biologiques *in situ* dans une perspective d'évaluation et de gestion des risques associés aux sédiments contaminés, tel que proposé par Chapman (1986), est indispensable. En effet, cet assemblage d'outils assure une compréhension exhaustive des effets indésirables que peuvent présenter les contaminants sédimentaires à l'égard des communautés benthiques. L'application d'une telle triade pourra alors favoriser des prises de décision éclairées qui contribueront à la protection et à la conservation de l'environnement hydrique.

Bibliographie

- Abe, A. et K. Urano (1996). « Characteristics of lethal substances and the removal effect of molecular sulfur in the *Salmonella* mutagenicity test for river sediments ». *Mutat. Res.*, 351: 61-66.
- Adams, W.J., R.A. Kimerle, et J.W. Barnett, Jr.. 1992. Sediment quality and aquatic life assessment. *Environ. Sci. Technol.* 26 : 1865-1875.
- AFNOR. 1992. Détermination de l'indice biologique global normalisé (IBGN). Association Française de Normalisation. NF T 90-350. 9 p.
- Alzieu, C.I. 2000. Évaluation des risques liés à l'immersion des boues de dragage des ports maritimes. Actes du Colloque " Les enjeux, pour la santé humaine et le maintien de la biodiversité, de la caractérisation et de la validation de systèmes d'évaluation écotoxicologique de la qualité des sédiments et boues de dragage". N. Dhainaut-Courtois, A. Dhainaut et L. Deloffre (Éds). Lille, 28 septembre 1999. 6p.
- Alzieu, C.I., G. Bocquene, R. Delesmont, N. Dhainaut-Courtois, A. Empis, J. Forget, M. Glemarec, J.F. Pavillon, C. Pruvot, et F. Quiniou. 2002. Evaluation des risques liés à l'immersion des boues de dragage des ports maritimes. Colloque de restitution des résultats du programme PNETOX, Paris 3 et 4 octobre 2002.
- Alzieu, C.I., G. Bocquene, N. Dhainaut-Courtois, R. Delesmont, A. Empis, M. Glemarec, J. Grall, J.F. Pavillon, C. Pruvot, et F. Quiniou. 1999. Evaluation des risques liés à l'immersion des boues de dragage des ports maritimes. Colloque PNETOX "Préserver et améliorer la qualité des milieux: les approches, du laboratoire au terrain". Paris 8-9 décembre 1999, Pp. 192-194.
- Ames, B.N., J. McCann et E. Yamasaki. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test, *Mutat. Res.*, 31, 347-364.
- Amiard, J.-C., Amiard-Triquet, C., S. Barka, J. Pellerin, et P.S. Rainbow. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat. Tox.* 76: 160-202.
- Amiard-Triquet, C. 1983. Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique: méthodologie, standardisation, interprétation, limites d'application. *Oceanis* 9:451-464.
- Ankley, G.T., D.M. Di Toro, D.J. Hansen, et W.J. Berry. 1996. Technical basis and proposal for deriving sediment quality criteria for metals. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:2056-2066.

- Ankley, G.T., N.A. Thomas, D.M. Di Toro, D.J. Hansen, J.D. Mahony, W.J. Berry, R.C. Swartz, R.A. Hoke, A.W. Garrison, H.E. Allen, et C. S. Zarba. 1994. Assessing potential bioavailability of metals in sediments: A proposed approach. *Environ. Manag.* 18: 331-337.
- Ankley, G.T., et N. Thomas. 1992. Interstitial water toxicity identification evaluation approach. Pp. 5-1 à 5-14, Dans US EPA, *Sediment Classification Methods Compendium*. US EPA, Washington, D.C. EPA-823-R-92-006.
- Ankley G.T., et M.K. Schubauer-Berigan. 1991. Comparison of techniques for the isolation of sediment pore water for toxicity testing. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27:507-512.
- Ankley, G.T., M.K. Schubauer-Berigan, et J.R. Dierkes. 1991a. Predicting the toxicity of bulk sediments to aquatic organisms with aqueous test fractions: pore water vs. elutriate. *Environ. Toxicol. Chem.* 10:1359–1366.
- Ankley, G.T., G.L. Phipps, E.N. Leonard, D.A. Benoit, V.R. Mattson, P.A. Kosian, A.M. Cotter, J.R. Dierkes, D.J. Hansen, et J.D. Mahony. 1991b. Acid-volatile sulfide as a factor mediating cadmium and nickel bioavailability in contaminated sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 10:1299–1307.
- Ankley, G.T., A. Katko, et J.W. Arthur. 1990. Identification of ammonia as an important sediment-associated toxicant in the Lower Fox River and Green Bay, Wisconsin. *Environ. Tox. Chem.* 9: 313-322.
- Arfsten, D. P., R. Davenport et D. J. Schaeffer. 1994. Reversion of bioluminescent bacteria (Mutatox™) to their luminescent state upon exposure to organic compounds, munitions and metal salts. *Biomed. Environ. Sc.*, 7: 144-149.
- Armitage, P.D., P. Moss, J.F. Wright, et M.T. Furse. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Res.* 17: 333-347.
- Arrêté du 14 juin 2000 relatif aux niveaux de référence à prendre en compte lors d'une analyse de sédiments marins ou estuariens présents en milieu naturel ou portuaire. *Journal Officiel* du 10 août 2000, Pp. 12415-12416.
- ASTM, 1995. Standard Test Methods for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants by Benthic Invertebrates. EI706-95. Technical Report. American Society for Testing and Materials, PA, USA.
- ASTM, 1994. Standard Guide for Collection, Storage, characterization, and Manipulation of Sediments for Toxicological Testing. E 1391-94. Pp. 1-21, Dans *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 14.02. American Society for Testing and Materials, PA, USA.

- ASTM. 1992. Standard Practice for Conducting an Interlaboratory Study to Determine the Precision of a Test Method. American society for Testing and Materials, Philadelphia, PA. 20 pages.
- Babut, M., C. Bonnet, M. Bray, P. Flammarion, et J. Garric. 2001a. Complément au SEQ Eau: Seuils d'aptitude à la vie aquatique pour différentes substances prioritaires au titre de la Directive Cadre pour la gestion des eaux. Cemagref Lyon Bely, 25 p.
- Babut, M., C. Bonnet, M. Bray, P. Flammarion, et J. Garric. 2001b. Complément au SEQ Eau: Seuils d'aptitude à la vie aquatique pour 28 substances phytosanitaires. Cemagref Lyon Bely, 25 p.
- Barnthouse, L.W., G.W. Suter II, A.E. Rosen, et J.J. Beauchamp. 1987. Estimating responses of fish populations to toxic contaminants. Environ. Toxicol. Chem. 6 : 811-824.
- Bisson, M., R. Dujardin, P. Flammarion, J. Garric, M. Babut, M.H. Lamy, J.M. Porcher, E. Thybaud, et E. Vindimian. 2000. Complément au SEQ Eau: méthode de détermination des seuils de qualité pour les substances génotoxiques. Cemagref Lyon Bely, Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. 151 p.
- Balch, G.C., C.D. Metcalfe et S.Y. Huestis. 1995. Identification of potential fish carcinogens in sediment from Hamilton Harbour, Ontario, Canada. Environ. Toxicol. Chem., 14: 79-91.
- Beak Consultants Ltd. 1988. Development of sediment quality objectives : Phase II – Guidelines development. Préparé pour le Ministère de l'environnement de l'Ontario, Mississauga, ON, CAN.
- Beak Consultants Ltd. 1987. Development of sediment quality objectives: Phase I – Options. Préparé pour le Ministère de l'environnement de l'Ontario, Mississauga, ON, CAN.
- Becker, D.S., Bilyard, G.R., et T.C. Ginn. 1990. Comparisons between sediment bioassays and alterations of benthic macroinvertebrate assemblages at a marine Superfund site: Commencement Bay, Washington. Environ. Toxicol. Chem. 9:669-685.
- Benoit, D.A., P.K. Sibley, J.L. Juenemann, et G.T. Ankley. 1997. *Chironomus tentans* life-cycle test: design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. Environ. Toxicol. Chem. 16 : 1165-1176.
- Bertrand, P., S. Fournier et Y. Vigneault. 1986. Concentrations en biphényles polychlorés et en métaux dans les sédiments et les organismes marins de la baie des Anglais (Québec). Ministère des Pêches et des Océans, Laboratoire de Québec, Québec,

Canada. Rapport statistique canadien des sciences halieutiques et aquatiques n°. 568. 50 p.

- Bitton, G. 1983. Bacterial and biochemical tests for assessing chemical toxicity in the aquatic environment: A review. *CRC Crit. Rev. Environ. Control* 13: 51-67.
- Blaise, C. et J.F. Férard. 2005. Effluent assessment with the PEEP (Potential Ecotoxic Effects Probe) Index. Pp. 69-87, Dans: *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations*, Vol. 2, C. Blaise et J.F. Férard (Éds). Springer Publishers.
- Blaise, C. et L. Ménard. 1998. A micro-algal solid phase test to assess the toxic potential of freshwater sediments. *Water Qual. Res. J. Can.* 33: 133-151.
- Blaise, C., J.F. Férard, et P. Vasseur. 1998. Microplate toxicity tests with microalgae : a review. Pp. 269-288, Dans: P.G. Wells, K. Lee, et C. Blaise (Éds), *Microscale Toxicity in Aquatic Toxicology : Advances, Techniques, and Practice*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Blaise, C., R. Legault, N. Bermingham, R. Van Coillie, et P. Vasseur. 1986. A simple microplate algal assay for aquatic toxicity assessment. *Tox. Assess. Int. J.* 1: 261-281.
- Blaise, C., R. Legault, N. Bermingham, R. van Coillie et P. Vasseur. 1984. Microtest mesurant l'inhibition de la croissance des algues (CI50) pour le dosage de l'ATP. *Sci. Tech. Eau.* 17 : 245-250.
- Blasco, J., V. Saenz, et A. Gomez-Parra. 2000. Heavy metal fluxes at the sediment-water interface of three coastal ecosystems from south-west of the Iberian Peninsula. *Sci. Total Environ.* 247: 189-199.
- Bombardier, M. 2005. The SED-TOX Index for toxicity assessment of contaminated solid matrices. Pp. 257-280, dans C. Blaise et J.F. Férard (Eds), *Small-scale freshwater Toxicity Investigations*, Springer Netherlands, 422 p.
- Bombardier, M., N. Bermingham, R. Legault, et A. Fouquet. 2001. Evaluation of an SOS-Chromotest based approach for the isolation and detection of sediment-associated genotoxins. *Chemosphere* 42: 931-944.
- Bombardier, M. et C. Blaise. 2000. Comparative study of the Sediment-Toxicity Index, benthic community metrics and contaminant concentrations. *Water qual. Res. J. Can.* 35: 753-780.
- Bombardier, M. et N. Bermingham. 1999. The SED-TOX Index : Toxicity-directed management tool to assess and rank sediments based on their hazard – Concept and application. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 685-698.
- Borgmann, U. et M. Munawar. 1989. A new standardized sediment bioassay protocol using the amphipod *Hyaella azteca* (Saussure). *Hydrobiol.* 188-189: 425-531.

- Borgmann, U., W.P. Norwood, T.B. Reynoldson, et F. Rosa. 2001. Identifying cause in sediment assessments: bioavailability and the Sediment Quality Triad. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58 :950-960.
- Borgmann, U., K.M. Ralph, et W.P. Norwood. 1989. Toxicity test procedures for *Hyalella azteca*, and chronic toxicity of cadmium and pentachlorophenol to *H. azteca*, *Gammarus fasciatus*, and *Daphnia magna*. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 18: 756-764.
- Borja, A., J. Franco, et V. Perez. 2000. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. *Mar. Poll. Bull.* 40: 1100-1114.
- Brochu, C., S. Moore, et É. Pelletier. 1995. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediments and biota of the St. Lawrence Estuary. *Mar. Pollut. Bull.*, 30: 515-23.
- Brown, B. et J. Neff. 1993. Bioavailability of sediment-bound contaminants to marine organisms. Rapport PNL-8761 UC-0000. Préparé par Battelle Marine Sciences Laboratory for the National Ocean Pollution Program Office, NOAA.
- Bruce, R.D. et D.J. Versteeg. 1992. A statistical procedure for modeling continuous toxicity data. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 1485-1494.
- Bulich, A. 1992. The mode of action by genotoxic agents in the restoration of light in the Mutatox™ test system. Conférence présentée au 13^e congrès de la SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry), Cincinnati, OH. 11 p.
- Burgess, R.M., et G.E. Morrison. 1994. A short-term exposure, sublethal, sediment toxicity test using the marine bivalve *Mulinia lateralis* : statistical design and comparative sensitivity. *Environ. Toxicol. Chem.* 13: 571-580.
- Burton, G.A. Jr. 1995. Critical issues in sediment bioassays and toxicity testing. *J. Aquat. Ecosyst. Stress and Recov.* 4: 151-156.
- Burton, G.A. Jr. 1992. Sediment collection and processing: Factors affecting realism. Pp. 37-66, Dans *Sediment Toxicity Assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Burton, G.A. Jr. 1991. Assessing the toxicity of freshwater sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 10: 1585-1627.
- Burton, G.A., Jr., C.G. Ingersoll, L.C., Burnett, M. Henry, M.L. Hinman, S.J. Klaine, P.F. landrum, P. Ross, et M. Tuchman. 1996. A comparison of sediment toxicity test methods at three Great Lake areas of concern. *J. Great Lakes Res.* 22(3): 495-511.
- Cairns, J. Jr. 1988. Putting the eco in ecotoxicology. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 8: 226-238.

- Cairns, J. Jr., D.W. Albaugh, F. Busey, et M.D. Chanay. 1968. The sequential comparison index – a simplified method for non-biologists to estimate relative differences in biological diversity in stream pollution studies. *J. Water Pollut. Cont. Fed.* 40: 1607-1613.
- Camargo, J.A. 1992. New diversity index for assessing structural alterations in aquatic communities. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 48: 428-434.
- Campbell, P.G.C., et A. Tessier. 1994. Geochemistry and bioavailability of trace metals in sediments. Pp. 125-148, Dans: *Aquatic Toxicology: fundamental concepts and Methodologies*, A. Boudou et F. Ribeyre (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Canfield, T.J., F.J. Dwyer, J.F. Fairchild, P.S. Haverland, C.I. Ingersoll, N.E. Kemble, D.R. Mount, T.W. La Point, G.A. Burton, et M.C. Swift. 1996. Assessing contamination in Great Lakes sediments using benthic invertebrate communities and the sediment quality triad approach. *J. Great Lakes Res.* 22: 565-583.
- Carr, R.S. 1988. Marine and estuarine porewater toxicity testing. Pp. 523-537, Dans: *Microscale Testing and Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice*. P.G. Wells, K. Lee et C. Blaise (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Carr, R.S., E.R. Long, H.L. Winsdom, D.C. Chapman, G. Thurby, G.M. Sloane, et D.A. Wolfe. 1996. Sediment quality assessment studies of Tampa Bay. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 1218-1231.
- Carr, R.S., et D.C. Chapman. 1995. Comparison of methods for conducting marine and estuarine sediment porewater toxicity tests—Extraction, storage and handling techniques. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 28:69-77.
- Carr, R.S., et D.C. Chapman. 1992. Comparison of solid-phase and pore-water approaches for assessing the quality of estuarine sediments. *Chem. Ecol.* 7: 19-30.
- Carr, R.S., J.W. Williams, et C.T.B. Fragata. 1989. Development and evaluation of a novel marine sediment pore water toxicity test with the polychaete *Dinophilus gyrocilatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 8: 533-543.
- Caux, P.Y., C. Blaise, P. Le Blanc, et M. Taché. 1992. A phytoassay procedure using fluorescence induction. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 549-557.
- CCME 1999. Critères canadiens de qualité de l'environnement. Division des critères et standards. Environnement Canada. Winnipeg, Manitoba, CAN.
- CCME. 1995. Protocole pour l'Élaboration de Recommandations pour la Qualité des Sédiments en Vue de la Protection de la Vie Aquatique. Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement, CCME EPC-98F.

- Chandler, J.R. 1970. A biological approach to water quality management. *Water Pollut. Control.* 69: 415-422.
- Chapman, P.M. 1995. Presentation and interpretation of Sediment Quality Triad. *Ecotoxicol.* 5: 327-339.
- Chapman, P.M.. 1992. Sediment quality triad approach. *Sediment Classification Methods Compendium.* US EPA, Washington, D.C. EPA-823-R-92-006.
- Chapman, PM. 1989. Current approaches to developing sediment quality criteria. *Environ. Toxicol. Chem.* 8:589-599.
- Chapman PM. 1986. Sediment quality criteria from the sediment quality triad: an example. *Environ. Toxicol. Chem.* 5:957-964.
- Chapman, P.M., B. Anderson, S. Carr, V. Engles, R. Green, J. Hameedi, M. Harmon, P. Haverland, J. Hyland, C. Ingersoll, E. Long, J. Rodgers, Jr., M. Salazar, P.K. Sibley, P.J. Smith, R. C. Swartz, B. Thompson et H. Windom. 1997. General guidelines for using the Sediment Quality Triad. *Mar. Pollut. Bull.* 34: 368-372.
- Chapman, P.M., E.A. Power, et G. A. Burton, Jr. 1992. Integrative assessments in aquatic ecosystems, Pp. 313-340, Dans: *Sediment Toxicity Assessment*, G.A Burton, Jr. (éd), Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Chapman, P. M. et R. Fink. 1984. Effects of Puget Sound sediments and their elutriates on the life cycle of *Capitella capitata*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 33:451-459.
- Chapman, P.M., et J.D. Morgan. 1983. Sediment bioassays with oyster larvae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 438-444.
- Chessman, B.C., et P.K. McEvoy. 1998. Towards diagnostic biotic indices for river macroinvertebrates. *Hydrobiol.* 364: 169-182.
- Chessman, B.C., J.E. Grouns, et A.R. Kotlash. 1997. Objective derivation of macroinvertebrate family sensitive grade numbers for the SIGNAL biotic index: application to the Hunter River system, New South Wales. *Mar. Fresh. Res.* 48: 159-172.
- Chèvre, N. 2001. Développement d'un indice intégrateur de danger vis-à-vis de la faune aquatique à partir d'une batterie de biomarqueurs. Rapport de stage post-doctoral, Fonds National Suisse pour la Recherche Scientifique, Centre Saint-Laurent, Environnement Canada, Montréal.
- Clements, W.H., D.S. Cherry, et J.H. Van Hassel. 1992. Assessment of the impact of heavy metals on benthic communities at the Clinch River (Virginia): Evaluation of an index of community sensitivity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49:1686-1694.

- CMI. 2004. Douzième Rapport biennal sur la qualité de l'eau des Grands Lacs. Commission mixte internationale, Canada et Etats-Unis. Septembre 2004. <http://www.ijc.org/php/publications/html/12br/francais/report/index.html>
- CMI. 2002. Onzième Rapport biennal. La qualité de l'eau dans les Grands Lacs. Commission mixte internationale, Canada et Etats-Unis. Septembre 2002. <http://www.ijc.org/php/publications/html/11br/francais/report/index.html>
- Coffman, W.P. 1978. *Chironomidae*. Pp. 345-376, dans: An Introduction to the Aquatic Insects of North America, R.W., M. et K.W. Cummins. Kendall and Hunt Publishing Company, IO., USA.
- Costan, G., N. Bermingham, C. Blaise, et J.F. Férard. 1993. Potential ecotoxic effects probe (PEEP) : A novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 8: 115-140.
- Côté C., Blaise C., Schroeder J., Douville M., Michaud J.R. 1998a. Investigating the adequacy of selected micro-scale bioassays to predict the toxic potential of freshwater sediments through a tier process. *Water Qual. Res. J. Canada* 33:253-277.
- Côté C., Blaise C., Michaud J.R., Ménard, L., Trottier, S., Gagné, F., Lifshitz, R. 1998b. Comparisons between microscale and whole-sediment assays for freshwater sediment toxicity assessment. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 13:93-110.
- Courtois, Y.A., M.L. Pesle et B. Festy. 1992. Activation of pro-mutagens in complex mixtures by rat liver S9 systems. *Mutat. Res.*, 276: 133-137.
- Cripe, G.M., R.S. Carr, S.S. Foss, P.S. Harris, et R.S. Stanley. 2000. Effects of whole sediment from Corpus Christy Bay on survival, growth and reproduction of the mysid *Americamysis bahia* (formely *Mysidopsis bahia*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64 : 426-433.
- Dallinger, R. 1993. Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. Pp. 248-289, Dans: *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates*. R. Dallinger et P.S. Rainbow (éds),. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Davis, W.S., et J.E. Lathrop. 1992. Freshwater benthic macroinvertebrate community structure and function. In: *Sediment Classification Methods Compendium*. EPA 823-R-92-006. Office of Water. United States Environmental Protection Agency. Washington, District of Columbia.
- Day, K.E., B.J. Dutka, K.K. Kwan, N. Batista, T.B. Reynoldson, et J.L. Metcalfe-Smith. 1995. Correlations between solid-phase microbial screening assays, whole-sediment toxicity tests with macroinvertebrates and in situ benthic community structure. *J. Great Lakes Res.* 21: 192-206.

- De March, B.G. E. 1981. *Hyalella azteca* (Saussure) introduction. Pp. 62-77, In: Manual for the culture of selected freshwater invertebrates. Lawrence, S.G. (Éd.) Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci., CAN.
- DeShon, J.E. 1995. Development and application of the invertebrate community index (ICI). Pp. 217-243, Dans: Biological assessment and criteria: Tools for water resource planning and decision making. W.S. Davis and T.P. Simon (Éds). Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- DeWitt, T.H., G.R. Ditsworth, et R.C. Swartz. 1988. Effects of natural sediment features on survival of the phoxoxephalid amphipod *Rhepoxynius abronius*. Mar. Environ. Res. 25: 99-124.
- Di Toro, D.M., J.D. Mahony, D.J. Hansen, K.J. Scott, A.R. Carlson, et G.T. Ankley. 1992. Acid volatile sulfide predicts the acute toxicity of cadmium and nickel in sediments. Environ. Sci. Technol. 26: 96-101.
- DiToro, D.M., C.S. Zarba, D.J. Hansen, W.J. Berry, R.C. Swartz, C.E. Cowan, S.P. Pavlou, H.E. Allen, N.A. Thomas, et P.R. Paquin. 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals by using equilibrium partitioning. Environ. Toxicol. Chem. 10: 1541-1583.
- Docampo, L., et B.G. De Bikuna. 1994. Development and application of a diversity index (D) to the benthic macroinvertebrates communities in the rivers of Biscay (North of Spain). Arch. Fur Hydrobiol. 129: 353-371.
- Dutka, BJ, et K.K. Kwan. 1988. Battery of screening tests approach applied to sediment extracts. Toxic. Assess. 3:303-314.
- Dutka, BJ, et K.K. Kwan. 1982. Application of four bacterial screening procedures to assess changes in the toxicity of mixtures. Environ. Pollut. Series A 29:25-171.
- Eertman, R.H. M., M., Groenink-van Emstede, et B. Sandde. 1993. The effects of the polycyclic aromatic hydrocarbons fluoranthene and benzo(a)pyrene on the mussel *Mytilus edulis*, the amphipod *Bathyporeia sarsi* and larva of the oyster, *Crassostrea gigas*. BEON-Efecten, DGW-NIOO. 50 p.
- Eisler, R. 1971. Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and other organisms. J. Fish. Res. Bd Can. 28: 1225-1234.
- Emery, V.L., Jr., D.W. Moore, B.R. Gray, B.M. Duke, A.B. Gibson, R.B. Wright, et J.D. Farrar. 1997. Development of a chronic sublethal sediment bioassay using the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* (Shoemaker). Environ. Toxicol. Chem. 16: 1912-1920.
- Engle, V.D., J.K. Summers, et G.R. Gaston. 1994. A benthic index of environmental condition of Gulf of Mexico estuaries. Estuaries 17:372-384.

- Environmental Biodetection Products Inc. (EBPI). 1993. The sediment chromotest : a direct sediment testing procedure, Version 2.1, EBPI, Brampton, Ontario, 3 pages.
- Environnement Canada (EC). 2001. Méthode d'essai biologique: essai de survie et de croissance des vers polychètes spionides (*Polydora cornuta*). Centre de technologie environnementale, Ottawa, Ontario. Rapport SPE 1/RM/41. 161 p.
- EC. 1998. Test Mutatox. Écotoxicologie et chimie environnementale, Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, Montréal, Québec. 43 p.
- EC. 1997a. Test de génotoxicité avec *E. coli* PQ37 (SOS Chromotest). Écotoxicologie et chimie environnementale, Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, Montréal, Québec. 65 p.
- EC. 1997b. Test de mutagénicité avec *S. typhimurium* (test de fluctuation). Écotoxicologie et chimie environnementale, Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, Montréal, Québec. 67 p.
- EC 1997c. Biological Test Method. Test for Growth and Survival in Sediment Using the Freshwater Amphipod *Hyallela azteca*. EPS 1/RM/33. EC, Ottawa, CAN. 145 p.
- EC. 1997d. Biological Test Method. Test for Growth and Survival in Sediment Using Larvae of Freshwater Midges (*Chironomus tentans* or *Chironomus riparius*). EPS 1/RM/32. EC, Ottawa, CAN. 133 p.
- EC. 1995. Manuel d'assurance et de contrôle de la qualité. 2^e édition. Écotoxicologie et chimie environnementale, Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, Montréal, Québec. 104 pages et annexes.
- EC. 1994. Document d'orientation sur le prélèvement et la préparation de sédiments en vue de leur caractérisation physicochimique et d'essais biologiques. Direction générale du développement technologique, Ottawa, Ontario. Rapport SPE 1/RM/29. 128 p..
- EC. 1993. Evaluation of the PEEP Index and Recommended Toxicity Tests for the Fraser River Basin. Rapport prepare par Environmental Management Associates and Hydroqual Laboratories, Ltd.. Rapport DOE-FRAP, Vancouver Nord, BC., Canada.
- EC. 1992a. Méthode d'essai biologique: essai de toxicité sur la bactérie luminescente *Photobacterium phosphoreum*, Environnement Canada, Région du Québec, Conservation et Protection. Rapport SPE 1/RM/24, 67 pages.
- EC. 1992b. Méthode d'essai biologique: essai sur la fécondation chez les échinidés (oursins verts et oursins plats), Environnement Canada, Région du Québec, Conservation et Protection. Rapport SPE 1/RM/27, 109 pages.

- EC. 1992c. Méthode d'essai biologique: essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens, Environnement Canada, Région du Québec, Conservation et Protection. Rapport SPE 1/RM/26, 99 pages.
- EC. 1992d. Méthode d'essai biologique: essai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Selenastrum capricornutum*, Environnement Canada, Région du Québec, Conservation et Protection. Rapport SPE 1/RM/25, 43 pages.
- EC et Ministère de l'Environnement du Québec (MENV). 1992. Critères intérimaires pour l'évaluation de la qualité des sédiments du Saint-Laurent. Centre Saint-Laurent, Conservation de l'environnement, et Ministère de l'environnement du Québec, Montréal, Québec. 28 p.
- Federal Register. 1998. US EPA Water Pollution Control: Water Quality Standards, Proposed Rules. 63: 129.
- Fernández, P. M. Grifoll, A.M. Solanas, J.M. Bayona, et J. Albalgés. 1992. Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in coastal sediments. Environ. Sci. Technol., 26: 817-829.
- Ferraris, J.. 1984. Macroinvertébrés 5. Synthèse de variabilité spatio-temporelle des macro-invertébrés benthiques et phytophiles récoltés du 7 avril 1982 au 22 juillet 1983. Élaboration de la clé de potentiel et description des communautés associées aux habitats-types. Ministère du Loisir, de la Chasse et de la Pêche. Service Archipel. Rapport technique, 366p.
- Forget, G., A. Sánchez-Bain, V. Arkhipchuk, T. Beauregard, C. Blaise, G. Castillo, L.E. Castillo, M.C. Díaz-Baez, Y. Pica-Granados, A. Ronco, R.C. Srivastava, et B.J. Dutka. 2000. Preliminary data of a single-blind, multicountry trial of six bioassays for water toxicity monitoring. Environ. Toxicol. 15: 362-369.
- Förstner, U.. 1987. Sediment-associated contaminants – an overview of scientific bases for developing remedial options. Hydrobiol. 149: 221-246.
- Fouquet A.. 1994. Directives d'assurance et contrôle de la qualité pour l'analyse de substances chimiques organiques dans différents milieux environnementaux. St. Lawrence Center, Environmental Conservation, Environment Canada, Montreal, QC, Canada.
- France, R.L.. 1993. Production and turnover of *Hyalella azteca* in central Ontario, Canada, compared with other regions. Fresh. Biol. 30: 343-349.
- Franklin, N.M., J.L. Stauber, S.J. Markich, et R.P. Lim. 2000. PH-dependent toxicity of copper and uranium to a tropical freshwater alga (*Chlorella sp.*). Aquatic Toxicol. 48: 275-289.
- Frontier, S., et D. Pichod-Viale. 1991. Écosystèmes : structure, fonctionnement évolution. Masson. 392 p.

- Fu, L.J., R.E. Staples, et R.G.J. Stahl. 1991. Applying the *Hydra attenuata* assay to evaluating environmental water pollution. *Toxicologist* 11: 296.
- Gagné, F., et C. Blaise. 1995. Evaluation of the genotoxicity of environmental contaminants in sediments to Rainbow trout hepatocytes. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 10: 217-229.
- Gagné, F. S. Trottier, C. Blaise, J. Sproull, et B. Ernst. 1995. Genotoxicity of sediment extracts obtained in the vicinity of a creosote-treated wharf to rainbow trout hepatocytes. *Toxicol Lett.* 78: 175-182.
- Galloway, T.S. et M.H. Depledge. 2001. Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicol.* 10: 5-23.
- Gannon, J.E., et A.M. Beeton. 1971. Procedures for determining the effects of dredged sediments on biota benthos viability and sediment selectivity tests. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 43: 392-398.
- Geffard, A. 2001. Réponses du biota à la contamination polymétallique d'un milieu estuarien, la Gironde : Exposition, imprégnation, induction d'une protéine de détoxification, la métallothionéine, impact au niveau individuel et populationnel. Thèse, Univ. de Nantes, Nantes, FR. 251 pp.
- Ghetti, P.F., et G. Bonazzi. 1977. A comparison between various criteria for the interpretation of biological data in the analysis of the quality of running waters. *Wat. Res.* 11: 819-831.
- Giesy, J.P., C.J. Rosiu, et R.L. Graney. 1990. Benthic invertebrate bioassays with toxic sediment and pore water. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:233-248.
- Giesy, J.P., et R.A. Hoke. 1989. Freshwater sediment toxicity bioassessment: Rationale for species selection and test design. *J. Great Lakes Res.* 15:539-569.
- Giesy, J.P., R.L. Graney, J.L. Newsted, C.J. Rosiu, A. Benda, R.G. Kreis, Jr., et F.J. Horvath. 1988a. Comparison of three sediment bioassay methods using Detroit River sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 7:483-498.
- Giesy, J.P., C.J. Rosiu, R.L. Graney, J.L. Newsted, A. Benda, R.G. Kreis, Jr., et F.J. Horvath. 1988b. Toxicity of Detroit River sediment interstitial water to the bacterium, *Photobacterium phosphoreum*. *J. Great Lakes Res.* 14:502-513.
- Gilbert, F., F. Galgani, et Y. Cadiou. 1992. Rapid assessment of metabolic activity in marine microalgae : application in ecotoxicology tests and evaluation of water quality. *Mar. Biol.* 112: 199-205.
- Gilbert, R.I. 1980. The analysis of fluctuation tests. *Mutat. Res.*, 74 : 283-289.

- Goodnight, C.I. et T.S. Whitley. 1960. Oligochaetes as indicators of pollution. Proc. 15th Ind. Waste Conference, Purdue Univ.. 106: 139-142.
- Grall, J. et M. Glemarec. 1997. Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine and Coastal Shelf Science* 44: 43-53.
- Grifoll, M., A.M. Solanas, et J.M. Bayona. 1992. Bioassay-directed chemical characterization of genotoxic agents in the dissolved and particulate water phases of the Besos and Llobregat rivers (Barcelona, Spain). *Arch. Environ. Toxicol.*, 23: 19-25.
- Grifoll, M., A.M. Solanas, et J.M. Bayona. 1990. Characterization of genotoxic components in sediments by mass spectrometric techniques combined with *Salmonella*/Microsome test. *Arch. Environ. Toxicol.*, 19: 175-84.
- Hilsenhoff, W.L. 1987. An improved biotic index of organic stream pollution. *Great Lakes Entomologist* 20:31-39.
- Hilsenhoff, W.L. 1982. Using a biotic index to evaluate water quality in streams. Technical Bulletin No. 132. Department of Natural Resources. Madison, Wisconsin.
- Hily, C. 1984. Variabilité de la macrofaune benthique dans les milieux hypertrophiques de la Rade de Brest. Thèse de Doctorat d'Etat, Univ. Bretagne Occidentale. Vol 1, 359 p ; Vol. 2, 337 p.
- Ho, K.T., L.J. Mills, C. Mueller, S.C. Anderson, et A.R. Malcom. 1994. The influence of sediment extract fractionation on bioassay results. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 145-154.
- Ho, K. T., et J. G. Quinn. 1993. Bioassay-directed fractionation of organic contaminants in estuarine sediment using the new mutagenic bioassay, MutatoxTM. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 12: 823-830.
- Hoke, R. A., P. D. Jones, A. E. Maccubbin, M. J. Zabik, et J. P. Giesy. 1994. Use of *in vitro* microbial assays of sediment extracts to detect and quantify contaminants with similar modes of action. *Chemosphere*, 28: 16-181.
- Holoubek, I., J. Paasivirta, P. Maatele, M. Lahtipera, I. Holoubkova, P. Korinek, Z. Bohacek, et J. Caslavsky. 1990. Comparison of extraction methods for polycyclic aromatic hydrocarbon determination in sediments. *Environ Toxicol. Chem.*, 25: 137-154.
- Hooten, R.L., et R.S. Carr. 1998. Development and application of a marine sediment pore-water toxicity test using *Ulva fasciata* zoospores. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 932-940.

- Hubbard, S. A., M. H. L. Green, D. Gatehouse, et J. W. Bridges. 1984. The fluctuation test in bacteria. Pp. 141-160, Dans: Handbook of Mutagenicity Testing, 2^e édition, B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols et C. Ramel (Éds), Elsevier Science, New York, NY..
- IML. 1997. La contamination de la baie des Anglais, feuillet d'information sur l'état de l'environnement marin du Saint-Laurent. Institut Maurice-Lamontagne, Pêches et Océans Canada, Mont-Joli, Québec. 8 p.
- Ingersol, C.G., E.L. Brunson, F.J. Dwyer, D.K. Hardesty, et N.E. Kemble. 1998. Use of sublethal endpoints in sediment toxicity tests with the amphipod *Hyalella azteca*. Environ. Toxicol. Chem. 17: 1508-1523.
- Ingersoll, C.G., T. Dillon, et G.R. Biddinger. 1997a. Ecological risk assessment of contaminated sediments, SETAC Pellston Workshop on Sediment Ecological Risk Assessment, 23 au 28 avril 1995, Pacific Grove (Californie), Pensacola (Floride), SETAC Pr., 390 p.
- Ingersoll C.G., G.T. Ankley, R. Baudo, G.A. Burton, W. Lick, S.N. Luoma, D.D. MacDonald, T.F. Reynoldson, K.R. Solomon, R.C. Swartz, et W. Warren-Hicks. 1997b. Workgroup summary report on an uncertainty evaluation of measurement endpoints used in sediment ecological risk assessments. Chapter 18. EPA/600/A-96/097. U.S. Environmental Protection Agency, National Biological Service, Corvallis, OR, USA.
- Jacobs, M.W., J.J. Delfino, et G. Bitton. 1992. The toxicity of sulfur to Microtox[®] from acetonitrile extracts of contaminated sediments. Environ. Toxicol. Chem., 11: 1137-1143.
- Jarvis, S., M. E. Honeycutt, V. A. McFarland, A. Bulich, et H. C. Bounds. 1996. A comparison of the Ames assay and Mutatox in assessing the mutagenic potential of contaminated dredged sediment. Ecotox. Environ. Safety, 33: 193-200.
- Jimenez, B.D., et J.J. Stegeman. 1990. Detoxification enzymes as indicators of environmental stress on fish. Am. Fish. Soc., Symposium. 8: 67-79.
- Johnson, B.T. 1998. Microtox[®] toxicity test system – new developments and applications. Pp. 201-218, In: Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice. P.G. Wells, K. Lee et C. Blaise (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Johnson, B. T.. 1992a. Potential genotoxicity of sediments from the Great Lakes. Environ. Toxicol. Water Qual., 7: 373-390.
- Johnson, B. T.. 1992b. An evaluation of a genotoxicity assay with liver S9 for activation and luminescent bacteria for detection. Environ. Toxicol. Chem., 11: 473 - 480.

- Johnson, E.M., R.M. Gorman, B.E.G. Gabel, et M.E. George. 1982. The *Hydra attenuata* system for detection of teratogenic hazards. *Teratogenesis, Mutag. Carcinog.* 2: 263-276.
- Jongen, W.M.F., G.M. Alink, et J.H. Koeman. 1978. Mutagenic effect of dichloromethane on *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, 56: 245-248.
- Jung, K., et G. Bitton. 1997. Use of Ceriofast™ for monitoring the toxicity of industrial effluents: Comparison with the 48-h acute *Ceriodaphnia* toxicity test and Microtox®. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 2264-2267.
- Karr, J.R.. 1981. Assessment of biotic integrity using fish communities: *Fisheries* 6: 21-27.
- Kwan, K.K. 1993. Direct Solid Phase Toxicity Test Procedure. *Environ. Toxicol. Water Qual.* Vol. 8: 345-350.
- Lacey, R., M.C. Watzin, et A.W. McIntosh. 1999. Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. *Environ. Toxicol. Chem.* 18 : 231-236.
- Lagadic, L., T. Caquet, et J.C. Amiard. 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. Pp. 1-9, Dans : Lagadic, L. Caquet, T. Amiard, J.C., Ramade, F. (Éds). Masson. Paris.
- Laliberté, D.. 1991. Réseau de surveillance des substances toxiques dans le milieu aquatique: teneurs en HAP dans les sédiments près de cinq alumineries du Québec en 1988. Sous-Ministériat au milieu urbain, Québec, Québec.
- Lamberson, J.O., et R.C. Swartz. 1992. Spiked-sediment toxicity test approach. In: *Sediment Classification Compendium*, EPA 823-R-92-006, Washington, D.C., US EPA, Office of Water.
- Lamy Environnement. 1996. Eaux marines – Pollutions par immersion, section II: Dispositions prises sur le plan national, sous-section II: Normes de rejets.-53062-L'eau. Lamy S.A. – Décembre 1996.
- Langevin, R., J.B. Rasmussen, H. Sloterdijk, et C. Blaise. 1992. Genotoxicity in water and sediment extracts from the St Lawrence River system, using the SOS Chromotest. *Water Res.* 26: 419-429.
- Larsson, P.. 1985. Contaminated sediment of lakes and oceans act as sources of chlorinated hydrocarbons for release to water and atmosphere. *Nature* 317: 347-349.
- Lee, K., et K.L. Tay. 1998. Measurement of microbial exozyme activity in sediments for environmental impact assessment. Pp. 219-236, Dans: *Microscale Testing in*

Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice. P.G. wells, K. Lee et C. Blaise (Éds). CRC press, Boca Raton, FL.

- Lee, K., J.J. Nagler, M. Fournier, M. Lebeuf, et D. G. Cyr. 1999. Toxicological characterization of sediments from Baie des Anglais on the St. Lawrence Estuary. *Chemosph.* 39: 1019-1035.
- Legault, R., C. Blaise, D. Rokosh, et R. Chong-Kit. 1994. Comparative assessment of the SOS Chromotest kit and the mutatox test with the *Salmonella* Plate Incorporation (Ames Test) and fluctuation tests for screening genotoxic agents. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 9: 45-47.
- L'Haridon, J., M. Fernandez, V. Ferrier, et J. Bellan. 1993. Evaluation of the genotoxicity of N-Nitrosoatrazine, N-Nitrosodiethanolamine and their precursors in vivo using newt micronucleus test. *Water Res.* 27: 855-862.
- Long, E.R.. 1992. Ranges in chemical concentrations in sediments associated with adverse biological effects. *Mar. Pollut. Bull.* 24: 38-45.
- Long, E.R., et C.J. Wilson. 1997. On the identification of toxic hot spots using measures of sediment quality triad. *Mar. Pollut. Bull.* 34: 373-374.
- Long, E.R., D.D. MacDonald, S.L. Smith, et F.D. Calder. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Manag.* 19: 81-97.
- Long, E.R., et D.D. MacDonald. 1992. National Status and Trends Program approach. In: *Sediment Classification Methods Compendium*, EPA 823-R-92-006, Washington, D.C., US EPA, Office of Water.
- Long, E.R., et L.G. Morgan. 1990. Potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the national status and trends program. NOAA/NOS/OMA-52. National Oceanic and Atmospheric Administration. Springfield. USA. 232 p.
- Long, E.R., M.F. Buchman, S.M. Bay, R.J. Breteler, R.S. Carr, P.M. Chapman, J.E. Hose, A.L. Lissner, J. Scott, et D.A. Wolfe. 1990. Comparative evaluation of five toxicity tests with sediments from San Francisco Bay and Tomales Bay, California. *Environ. Toxicol. Chem.* 9:1193-1214.
- Long, E.R., et P.M. Chapman. 1985. A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. *Mar. Poll. Bull.*, 16: 405-15.
- Loring, D.H., et R.T.T. Rantala. 1992. Manual for geochemical analysis of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth Sci. Rev.* 32: 235.

- Luoma, S.N. et J.L. Carter. 1993. Understanding the toxicity of contaminants in sediments : Beyond the bioassay-based paradigm. *Environ. Toxicol. Chem.* 12: 793-796.
- Luoma, S.N. et K.T. Ho. 1993. Appropriate uses of sediment bioassays. Pp. 193-206, dans P. Calow (éd). *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- MacDonald Environmental Sciences Ltd. 1994. Approach to the assessment of sediment quality in Florida coastal waters. Rapport préparé pour le Department of Environmental Protection de la Floride, Ladysmith (C.-B.), MacDonald Environmental Sciences, Ltd. Vol. 1, 123 p.
- MacDonald, D.D., S.L. Smith, M.P. Wong, et P. Mudroch. 1992. Élaboration des recommandations pour la qualité de l'environnement marin au Canada. Rapport préparé pour le groupe de travail interministériel sur les recommandations pour la qualité de l'environnement marin et le Conseil canadien des ministres de l'environnement, Ottawa, Environnement Canada, 50 p.
- Majeed, S.A. 1987. Organic matter and biotic indices on the beaches of North Brittany. *Mar. Poll. Bull.* 18: 490-495.
- Maltby, L., et P. Calow. 1989. Pp. 65-76, Dans : *Environmental Bioassay Techniques and their Application*. M. Munawar, G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson, et M.H. Sadar (Éds). *Hydrobiologia* 188/189, Kluwer Academic Publ., Belgique.
- Margalef, D.R.. 1958. Information theory in ecology. *General Systems* 3: 36-71.
- Maron, D. M, et B. N. Ames. 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mut. Res.*, 113: 173-215.
- Marvin, C.H., M. Tessaro, B.E. McCarry, et D.W. Bryant. 1994. A bioassay-directed investigation of Sydney Harbour sediment. *Sci. Total Environ.* 156: 119-131.
- Mathiessen, P., S. Bifield, F. Jarrett, M.F. Kirby, R.J. law, W.R. McMinn, D.A. Sheahan, J.E. Thain, et G.F. Whale. 1998. An assessment of sediment toxicity in the River Tyne estuary, UK by means of bioassays. *Mar. Environ. Res.* 45: 1-15.
- McCarthy, J.F., et L.R. Shugart. 1990. Biological markers of environmental contamination. Lewis Publ. 457 p.
- McDaniels, A.E., A.L. Reyes, L.J. Wymer, C. C. Rankin, et G. N. Stelma. 1993. Genotoxic activity detected in soils from a hazardous waste site by the Ames test and the SOS colorimetric test. *Environ. Mol. Mut.*, 22: 115-122.
- Menhinick, E.F.. 1964. A comparison of some species-individuals diversity indices applied to samples of field insects. *Ecol.* 45: 859-861.

- Metcalf, C.D., G.C. Balch, V.W. Cairns, et J.D. Fitzsimons. 1990. Carcinogenic and genotoxic activity of extracts from contaminated sediments in western Lake Ontario. *Sci. Total Environ.* 94: 125-141.
- Metcalf, J.L.. 1989. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrate communities: history and present status in Europe. *Environ. Pollut.* 60: 101-139.
- Microbics Corp. 1993. MutatoxTM manual, Version 2.2, Microbics Corporation, Carlsbad, CA. 17 p.
- Microbics Corp. 1992. Detailed solid-phase test protocol. Pp. 153-178, Dans *Microtox Manual – A Toxicity Testing Handbook*, Vol. II: Detailed Protocol. Carlsbad, CA.
- Moore, T.R., J.L. Bubier, A. Heyes, et R.J. Flett. 1995. Methyl and total mercury in Boreal plants, Experimental Lakes Area, northwestern Ontario. *J. Environ. Qual.* 24: 845-850.
- Nebeker, A.V., S.T. Onjukka, M.A. Cairns, et D.F. Krawczyk. 1986. Survival of *Daphnia magna* and *Hyaella azteca* in cadmium-spiked water and sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 933-938.
- Nebeker, A.V., M.A. Cairns, J.H. Gakstetter, K.W. Malueg, G.S. Schuytema, et D.F. Krawczyk. 1984. Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* 3: 617-630.
- Nikaido, H., et M. Vaara. 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.*, 49: 1-32.
- Oishi, S., et O. Takahashi. 1987. Mutagenicity of Tama river sediments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39: 696-700.
- OSPAR, (Commissions d'Oslo et de Paris). 1993. Lignes directrices de la commission d'Oslo sur la gestion des activités de dragage. Annexe 1 des conventions d'Oslo et de Paris pour la prévention de la pollution marine. Quinzième réunion des conventions d'Oslo et de Paris, Berlin, 14-19 juin 1993.
- OSPAR. 1994a. Étude des lignes de base des contaminants dans les sédiments superficiels de la zone maritime des conventions d'Oslo et de Paris pour la prévention de la pollution marine. Rapport des commissions d'Oslo et de Paris DE/SDCRE/JMM.JC. N°5 54, 78p.
- OSPAR. 1994b. Critères d'évaluation écotoxicologiques des métaux traces et des microcontaminants organiques dans l'Atlantique du Nord-Est. Rapport des commissions d'Oslo et de Paris, 47p.

- Pardos, M., C. Benninghoff, R.L. Thomas, et S. Khim-Heang. 1999. Confirmation of elemental sulfur toxicity to Microtox® in organic extracts of freshwater sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 188-193.
- Persaud, D., R. Jaagumagi, et A. Hayton. 1992. Guidelines for the protection and management of aquatic sediment quality in Ontario, Ontario Ministry of Environment, Water Resources Branch, Toronto, Ontario, PIBS 1962, Log 92-2309-067, 26 p.
- Persoone, G. 1998a. Development and first validation of a « stock-culture free » algal microbiotest : The Algaltokit. Pp. 311-320, Dans: *Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice*. P.G. Wells, K. Lee, et C. Blaise (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Persoone, G. 1998b. Development and validation toxkit microbiotests with invertebrates, in particular crustaceans. Pp. 437-449, Dans: *Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice*. P.G. Wells, K. Lee, et C. Blaise (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Persoone, G., C. Janssen, et W.De Coen. 2000. *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, NY. 550 p.
- Persoone, G. et C.R. Janssen. 1994. Freshwater invertebrate toxicity tests, Pp. 51-65, dans ,P. Calow (éd.), *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Scientific Publ., UK.
- Pesh, G.G. et N.E. Stewart. 1980. Cadmium toxicity to three species of estuarine invertebrates. *Mar. Environ. Res.* 3: 145-146.
- Pinel-Alloul, B, Méthot, G, Lapierre, L, et A. Willsie.1996. Macroinvertebrate community as a biological indicator of ecological and toxicological factors in Lake Saint-François (Québec). *Environ. Pollut.* 91:65-87.
- Price, R.K. et R.F. Uglow. 1979. Some effects of certain metals on development and mortality within the moult cycle of Crangon crangon (L.). *Mar. Environ. Res.* 2: 287-299.
- Quillardet, P., et M. Hofnung 1993. The SOS Chromotest: a review. *Mutat. Res.*, 297: 235-279.
- Quillardet, P., C. Bellecombe, et M. Hofnung. 1985. The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins validation study with 83 compounds. *Mutat. Res.*, 147: 79-95.
- Quillardet, P., O. Huisman, R. D'Ari, et M. Hofnung. 1982. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 79, 5971-5975.

- Quinghong, L.. 1995. A model for species diversity monitoring at community level and its application. *Environ. Monit. Assess.* 34:271-287.
- Quiniou, F. et C. Alzieu. 1999. L'analyse des risques chimiques appliquée aux dragages. Pp. 127-147, Dans : *Dragages et environnement marin : état des connaissances*. Alzieu C. (Coord.), Éditions IFREMER.
- Qureshi , A.A., A.A. Bulich, et D.L. Isenberg. 1998. Microtox® toxicity test systems – Where they stand today. Pp. 185-200, In: *Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Techniques, Advances, and Practice*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Reynoldson, T.B., et K.E. Day. 1998. Biological guidelines for the assessment of sediment quality in the Laurentian Great Lakes. Contribution n. 98-232 de l'INRE, Environnement Canada, Burlington, Ontario, CAN.
- Reynoldson, T.B., R.C. Bailey, K.E. Day, et R.H. Norris. 1995. Biological guidelines for freshwater sediment based on Benthic Assessment of Sediment (the BEAST) using a multivariate approach for predicting biological state. *Austral. J. Ecol.* 20: 198-219.
- Ronco, A., G. Bulus Rossini, C. Sobrero, C. Apartin, G. Castillo, M.C. Díaz-Baez, A. Espinosa Ramírez, I. Ahumada, et J. Mendoza. 2006. The application of hazard assessment schemes using the Watertox toxicity testing battery. Pp. 233-255, dans C. Blaise et J.F. Férard (éds). *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations*, Springer Netherlands.
- Rosenberg, D.M., et A.P. Wiens. 1976. Effects of sediment addition on macrobenthic invertebrates in a Northern Canadian River. *Water Res.* 12:753-763.
- Salomons, W., N.M. de Rooij, H. Kerdijk, et J. Bril. 1987. Sediment as a source for contaminants. *Hydrobiol.* 149: 13-30.
- Samoiloff, M.R., J. Bell, D.A. Birkholz, G.R.B. Webster, E.G. Arnoff, R. , et A. Madrid. 1983. Combined bioassay-chemical fractionation scheme for the determination and ranking of toxic chemicals in sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 17: 329-334.
- Santiago, S., K. Becker van Slooten, M. Pardos, C. Benninghoff, M. Dumas, E. Thybaud, et F. Garrivier. 2002. Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. Groupe de Travail Tests écotoxicologiques de la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman. Soluval Santiago, Institut Forel, Université de Genève, et École Polytechnique Fédérale de Lausanne.
- SAS Institute Inc.. 1988. SAS/STAT® User's Guide. Release 6.03. Cary, NC, USA.

- Sato, T., T. Momma, Y. Ose, T. Ishikawa, et K. Kato. 1983. Mutagenicity of Nagara river sediment. *Mutat. Res.*, 118: 257-67.
- Schiewe, M.H., E.G. Hawk, D.I. Actor, et M.M. Krahn. 1985. Use of a bacterial bioluminescence assay to assess toxicity of contaminated marine sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 1244-1248.
- Schuytema, G.S., A.V. Nebeker, W.L. Griffis, et C.E. Miller. 1989. Effects of freezing on toxicity of sediments contaminated with DDT and endrin. *Enviro. Toxicol. Chem.* 8: 883-891.
- Sediment Criteria Subcommittee. 1989. Review of the apparent effects threshold approach to setting sediment criteria. Rapport du Science Advisory Board, US EPA, Washington, DC.
- Shannon, C.E., et W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press.
- Shuba, P. J., Tatem, H. E., et Carroll, J. H. 1978. Biological assessment methods to predict the impact of open-water disposal of dredged material. Rapport technique D-78-50, US Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS., NTIS No. AD A060 502.
- Sibley, P.K., G.T. Ankley, A.M. Cotter, et E.N. Leonard. 1996. Predicting chronic toxicity of sediments spiked with zinc: an evaluation of the acid-volatile sulphide model using a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 2102-2112.
- Simpson, E.H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Stark, J.D. 1998. AQMCI: a biotic index for freshwater macroinvertebrate coded-abundance data. *New Zealand J. Mar. Freshwater. Res.* 32: 55-56.
- Suedel, B.C. et J.H. Rodgers, Jr.. 1994. Development of formulated reference sediments for freshwater and estuarine sediment testing. *Environ. Toxicol. Chem.* 13:1163-1175.
- Svenson, A., E. Edsholt, M. Ricking, M. Remberger et J. Röttorp. 1996. Sediment contaminants and Microtox[®] toxicity tested in a direct contact exposure test. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 11: 293-300.
- Swartz, R.C., P.F. Kemp, D.W. Schults, G.R. Ditsworth, et R.J. Ozretich. 1989. Acute toxicity of sediment from Eagle Harbor, Washington, to the infaunal amphipod *Rhepoxynius abronius*. *Environ. Toxicol. Chem.* 8: 215-222.
- Swartz, R.C., P.F. Kemp, D.W. Schultz, et J.O. Lamberson. 1988. Effects of mixtures of sediment contaminants on the marine infaunal amphipod, *Rhepoxynius abronius*. *Environ. Toxicol. Chem.* 7: 1013-1020.

- Swartz, R.C., D.W. Schults, T.H. DeWitt, G.R. Ditsworth, et J.O. Lamberson. 1987. Toxicity of fluoranthene in sediment to marine amphipods: A test of the equilibrium partitioning approach to sediment quality criteria. 89th Annual meeting, Society for Environmental Toxicology and Chemistry. Pensacola, FL. November 1987. 12 p.
- Swartz, R.C., G.R. Ditsworth, D.W. Schults, et J.O. Lamberson. 1985. Sediment toxicity to a marine infaunal amphipod : Cadmium and its interaction with sewage sludge. *Mar. environ. Res.* 18 : 133-153.
- Swartz, R.C., W.A. DeBen, K.A. Sercu, et J.O. Lamberson. 1982. Sediment toxicity and the distribution of amphipods in Commencement Bay, Washington, USA. *Mar. Pollut. Bull.* 13: 359-364.
- Swartz, R.C., W.A. Deben, et F.A. Cole. 1979. A bioassay for the toxicity of sediment to marine macrobenthos. *J. Water Pollut. Control Fed.* 54: 944-950.
- Tessier, A., et P.G.C. Campbell. 1987. Partitioning of trace metals in sediments: relationships with bioavailability. *Hydrobiol.* 149: 43-52.
- Townsend, B.E., J.R. Lawrence, et J.F. Flannagan. 1981. *Chironomus tentans* (Fabricius) introduction. Pp. 110-126, Dans: Manual for the culture of selected freshwater invertebrates. Lawrence, S.G (éd.). Canada.
- Trottier, S, C. Blaise, T. Kusui, T, et E.M. Johnson. 1997. Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based *Hydra attenuata* assay. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 12:265-271.
- Tuffery, G., et J. Verneaux. 1967. Méthode de détermination de la qualité biologique des eaux courantes. *Trav. Sect. P. et P., Cerafer.* 23 p.
- US EPA. 2002. A Guidance Manual to Support the Assessment of Contaminated Sediments in Freshwater Sediments in Freshwater Ecosystems. Vol. III – Interpretation of the Results of Sediment Quality Investigations. Prepared by D.D. MacDonald and C.G. Ingersoll for the US Environmental Protection Agency, Great Lakes National Program Office, Chicago, IL.
- US EPA 1994a. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. US Environmental Protection Agency. 133 p.
- US EPA, 1994b. Assessment and Remediation of Contaminated Sediments (ARCS) program. Great Lakes National Program Office. EPA 905/B-94/002. Chicago, IL.
- US EPA. 1992. Framework for ecological risk assessment. EPA/630/R-92/001. U.S. EPA, Risk Assessment Forum, Washington, DC, USA.

- US EPA. 1991a. Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal. EPA-503/8-91-001.
- US EPA. 1991b. Technical Support Document for Water Quality-based toxics Control, Office of Water, U.S.EPA, Washington, D.C. 169 p. + 9 annexes, PB91-127415.
- US EPA. 1986. Test Method for Evaluating Solid Waste. Volume 1A through 1C - Laboratory Manual (3rd Edition). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC. Report EPA/SW-846.
- US EPA et US ACE, 1991. Evaluation of dredged material proposed for ocean disposal. EPA-503/8-91/001, Washington, D.c., US Environmental Protection Agency and US Army Corps of Engineers.
- US EPA et US ACE. 1977. Environmental Protection Agency/Corps of Engineers Technical Committee on Criteria for Dredged and Fill Material, Ecological Evaluation of Proposed Discharge of Dredged Material into Ocean Waters. Implementation Manual for Section 103 of Public Law 92-532 (Marine Protection, Research, and Sanctuaries Act of 1972). July 1977 (2nd printing April 1978). Environmental Effects Laboratory, U.S. Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.
- Van der Oost, R., J. Beyer, et N.P.E. Vermeulen. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13: 57-149.
- Venitt, S., C. Crofton-Sleigh, et R. Forster. 1984. Bacterial mutation assays using reverse mutation. Pp. 45-98, Dans: *Mutagenicity testing: a practical approach*. S. Venitt et J.M. Parry (Éds). IRL Press, Washington, DC.
- Verneaux, J. 1984. Méthodes biologiques et problèmes de la détermination des qualités des eaux courantes. *Bull. D'Écol.* 15: 47-55.
- Viarengo, A., B. Burlando, F. Dondero, A. Marro, et R. Fabbri. 1999. Metallothionein as a tool in biomonitoring programmes. *Biomarkers* 4: 455-466.
- Viarengo, A., M.N. Moore, M. Pertica, G. Mancelli, G. Zanicchi, et R.P. Pipe. 1985. Detoxication of copper in the cells of the digestive gland of mussel: the role of lysosomes and thioneins. *Sci. Total Environ.* 44: 135-145.
- Vindimian, E., J. Garric, P. Flammarion, E. Thybaud, et M. Babut. An index of effluent aquatic toxicity designed by partial least squares regression, using acute and chronic tests and expert judgments. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2386–2391.
- Wade, D.C., R.G. Hudson, et A.D. McKinney. 1989. The use of juvenile freshwater mussels as a laboratory test species for evaluating environmental toxicity.

Abstracts, 10th annual meeting, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Toronto, ON, CAN. October 28-November 2, 1989.

- Washington, H.G. 1984. Diversity, biotic and similarity indices: A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Res.* 18:653-694.
- Weber, C.I., W.H. Peltier, T.J. Norberg-King, W.B. Horning, II, F.A. Kessler, J.R. Menkedick, T.W. Neiheisel, P.A. Lewis, D.F. Klemm, Q.H. Pickering, E.L. Robinson, J.M. Lazorchak, L.J. Wymer, et R.W. Freyberg. 1989. Short-term methods for estimating the toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. US EPA, Cincinnati, OH. EPA/600/4-89/001.
- Wells, P.G., K. Lee, et C. Blaise. 1998. *Microscale Testing in aquatic Toxicology: Advances, techniques, and Practice.* CRC Press, Boca Raton, FL. 679 p.
- Wenning, R.J. et C.G. Ingersoll. 2002. Summary of the SETAC Pellston workshop on use of sediment quality guidelines and related tools for the assessment of contaminated sediments. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola, FL, USA.
- Wentzel, R., A. McIntosh, W.P. McCafferty, G. Atchinson, et V. Anderson. 1977. Avoidance response of midge larvae (*Chironomus tentans*) to sediments containing heavy metals. *Hydrobiol.* 55: 171-175.
- West, W.R., P.A. Smith, G.M. Booth, et M.L. Lee. 1986. Determination of genotoxic polycyclic aromatic hydrocarbons in a sediment from the Black River (Ohio). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 15: 241-249.
- Westheide, W. 1984. The concept of reproduction in polychaetes with small body size : adaptations in interstitial species. Pp. 265-287, Dans H.-D. Pfannenstiel, et A. Fisher (éds). *Polychaete Reproduction.* Fortschritte der Zoologie, Stuttgart.
- White, P.A., J.B. Rasmussen, et C. Blaise, 1998a. Genotoxic substances in the St. Lawrence system I: Industrial genotoxins sorbed to particulate matter in the St. Lawrence, St. Maurice, and Saguenay Rivers, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17: 286-303.
- White, P.A., J.B. Rasmussen, et C. Blaise. 1998b. Genotoxic substances in the St. Lawrence system II: Extracts of fish and macroinvertebrates from the St. Lawrence and Saguenay Rivers, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 304-316.
- White, P.A. et C. Coté. 1998. Investigating the sources and fate of genotoxic substances in aquatic ecosystems with the SOS Chromotest. Pp. 607-630, dans P.G. Wells, K. Lee, et C. Blaise (Éds). *Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice.* CRC Press, Boca Raton, FL.

- Wildhaber ML, et C.J. Schmitt. 1996. Estimating aquatic toxicity as determined through laboratory tests of Great Lakes sediments containing complex mixtures of environmental contaminants. *Environ. Monit. Assess.* 41:255-289.
- Wilhm, J.L.. 1967. Comparison of some diversity indices applied to populations of benthic macroinvertebrates in a stream receiving organic wastes. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 39: 1673-1683.
- Wilhm, J.L., et T.C. Dorris. 1966. Species diversity of benthic macroinvertebrates in a stream receiving domestic and oil refinery effluents. *Am. Midl. Nat.* 76:427-449.
- Willsie, A.. 1993a. Adaptation of the invertebrate community index (ICI) to the St. Lawrence River. In Baddaloo, EG, Ramamoorthy, S and Moore, JW (eds), *Proc. 19th Annual Aquatic Toxicity Workshop, Edmonton, 4-5 October 1992.*
- Willsie, A.. 1993b. L'Indice des Communautés d'Invertébrés: Définition, Choix et Validation des Métriques en Fonction des Données Historiques. Research Report, St. Lawrence Centre, Conservation and Protection, Environment Canada, QC.
- Winger, P.V., et P.J. Lasier. 1991. A vacuum-operated pore-water extractor for estuarine and freshwater sediments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 321-324.
- Woodiwiss, F.S.. 1964. The biological system of stream classification used by the Trent River Board. *Chem. Indust.* 11: 443-447.
- Xu, H.H.. 1998. ATP-TOX system – a review. Pp. 153-159, In: *Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques and Practice.* P.G. Wells, K. Lee, et C. Blaise (Éds). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Xu, H.H., et B.R. Dutka. 1987. ATP-TOX system – a rapid sensitive bacterial toxicity screening system based on the determination of ATP. *Toxic Assess.* 2: 149-166.
- Zand, S.M.. 1976. Indexes associated with information theory in water quality. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 48: 2026-2031.

Annexe 1 – Conditions Suivies pour la Réalisation des Bioessais

A. MICROTOX®

L'essai Microtox® est pratique parce qu'il évite de cultiver en permanence les bactéries en laboratoire. Les bactéries sont achetées lyophilisées et elles peuvent s'entreposer pendant plusieurs mois, tout comme un réactif chimique. Cette caractéristique rend l'essai Microtox® attractif pour des mesures de toxicité entreprises autant en laboratoire que sur le terrain. La rapidité de l'analyse et la possibilité de conduire de nombreux essais, de façon rentable, favorisent la mise en oeuvre de vastes programmes de dépistage de la toxicité d'effluents ou de produits chimiques, de détermination des constituants toxiques d'un rejet complexe, ou d'autres recherches de grande envergure. Par exemple, l'essai a été exploité pour jauger la qualité hydrique de vastes sections du fleuve Saint-Laurent (Kaiser *et al.*, 1988a).

En général, la sensibilité de cet essai peut équivaloir à celle des essais de létalité aiguë réalisés avec des poissons (Munkittrick et Power, 1989; Munkittrick *et al.*, 1991). Comparé aux essais de létalité avec tête-de-boule, truite et daphnie, l'essai Microtox® offre une sensibilité semblable vis-à-vis des composés organiques purs, des eaux usées urbaines et industrielles les plus toxiques, mais il est souvent moins sensible aux produits toxiques inorganiques et aux pesticides (Munkittrick et Power, 1989; Munkittrick *et al.*, 1991).

L'essai Microtox® utilise une souche particulière de la bactérie marine *Vibrio fischeri* (*anc. Photobacterium phosphoreum*) pour déterminer la toxicité d'échantillons. Cette bactérie émet de la lumière au cours de son processus métabolique normal, et sa luminescence est mesurée à l'aide d'un photo-détecteur spécialement conçu à cette fin. Une diminution de luminescence après 5, 15 ou 30 min d'exposition sert de mesure de toxicité.

Organismes d'essai

Les micro-organismes soumis à cet essai proviennent d'une culture normalisée et appartiennent à une souche appelée «NRRL B-11177».

Le réactif bactérien est acheté de la firme Microbics®. Les bactéries proviennent d'une souche génétiquement homogène; elles sont récoltées au cours de leur phase exponentielle de croissance puis lyophilisées.

On ramène les bactéries au stade actif (ou vivant) de réactif reconstitué (*Reconstituted Reagent*) en y ajoutant une solution de reconstitution (*Reconstitution Solution*) et en haussant leur température jusqu'à 5° C.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-1 est celui proposé par EC (1992).

Tableau A-1 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai Microtox^{MC}

Type d'essai	Statique, d'une durée de 15 min, ou encore de 20 min, selon la phase sédimentaire à l'étude.
Matrice	Eau interstitielle, sédiments humides et extraits organiques.
Appareillage	Photomètre Microbics, de modèle 2055 ou de modèle 500 automatisé.
Eau de contrôle/de dilution	Solution normalisée de 2 % de NaCl dans de l'eau pure (diluant).
Température	15 ± 0,3° C.
Éclairage	Lumière ambiante.
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	La plus forte concentration est habituellement de 45 %, chaque concentration inférieure correspondant à la moitié de la précédente; on peut aussi exécuter des essais sur des échantillons non dilués ou presque ou sur d'autres concentrations en séries logarithmiques.
Récipient d'essai	Cuvettes d'incubation en verre (12 mm * 50 mm).
Observations	Eau interstitielle et extraits organiques : Bioluminescence au temps zéro, puis 15 après l'introduction de l'échantillon. Sédiments humides : Bioluminescence au temps zéro, puis 20 min après l'introduction de l'échantillon.
Résultats	CI50 après 15 min (eau interstitielle ou extraits organiques) ou 20 min (sédiments humides).
Validité de l'essai	Pour être valide, l'estimation numérique de la CIp devrait se fonder sur des concentrations où l'on observe des valeurs d'inhibition de la bioluminescence supérieures et inférieures à la valeur à la CIp.

B. TOXI-CHROMOTEST^{MC}

La trousse commerciale (toxkit) de la firme Environmental Bio Detection Products (EBPI, 1993) a été utilisée pour réaliser cet essai. La toxicité traduit l'inhibition de l'activité de l'enzyme β -galactosidase chez la bactérie *Escherichia coli* après 2 heures d'exposition à un sédiment humide.

En bref, la souche bactérienne (*E. coli*) est placée dans un milieu d'essai qui induit la synthèse d'une enzyme, la β -galactosidase (β -gal)⁸. Plus la viabilité cellulaire est importante, plus les niveaux de β -gal sont élevés et vice-versa. Le test consiste à exposer les bactéries à une série de dilutions de sédiments pendant 2 h à 37 °C, puis à transférer 20 μ L de chacune des dilutions sur un papier tampon imbibé de substrat⁹. Le papier tampon, placé dans une boîte de pétri, est incubé pendant 90 min à 37 °C. Si l'échantillon n'est pas toxique, une coloration bleue se développe. La plus faible dilution qui ne provoque aucune coloration est rapportée comme étant la CI₁₀₀ (2 h).

Organismes d'essai

Les micro-organismes proviennent d'une culture normalisée et appartiennent à une souche appelée «K12 OR85» de *E. coli*. On se procure le réactif bactérien chez EBPI (Brampton, ON, Canada). Les bactéries proviennent d'une souche génétiquement homogène et elles sont ensuite lyophilisées.

On ramène les bactéries au stade actif (ou vivant) en y ajoutant 10 mL de milieu LBet en incubant la suspension bactérienne à 22 ± 2 °C pendant 20 min, avant d'y ajouter le mélange réactif.

Conditions d'essai

Le protocole expérimental suivi (Tableau A-2) est celui décrit par Kwan (1993).

⁸ Les cellules doivent synthétiser la β -gal pour assurer leur survie.

⁹ Le 5-bromo-4-chloro-3- β -D-galactoside (X-gal). La β -gal transforme ce substrat en un chromogène bleu.

**Tableau A-2 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai
Toxi-Chromotest^{MC}**

Type d'essai	Statique, d'une durée de 120 min.
Matrice	Sédiment humide.
Appareillage	Kit d'essai de toxicité analytique Toxi Chromopad, version 3.1 (EBPI) et spectrophotomètre.
Eau de contrôle/de dilution	Eau pure (Milli Q).
Température	37° C.
Éclairage	Lumière ambiante.
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	La plus forte concentration est habituellement de 45 % p/v, chaque concentration inférieure correspondant à la moitié de la précédente; on peut aussi exécuter des essais sur des échantillons non dilués ou sur d'autres concentrations en séries logarithmiques.
Récipient d'essai	Tubes de verre borosilicate (15.5 x 5.6 mm).
Observations	Intensité de couleur produite suite à l'ajout d'un substrat (chromogène bleu; EBPI).
Résultats	CE100 (concentration minimale causant 100% d'inhibition de l'activité enzymatique) : aucune coloration bleue.
Validité de l'essai	Pour être valide, une coloration bleue doit être observée dans l'échantillon témoin, suite à l'ajout du substrat.

C. ESSAIS DE GÉNOTOXICITÉ

SOS Chromotest

Les essais SOS Chromotest ont été effectués selon la procédure mise au point au laboratoire du centre Saint-Laurent d'EC, 1997a. La souche *E coli* PQ37 a été obtenue de l'Institut Pasteur (Paris, France). Les extraits organiques ont été testés sans et avec activation métabolique (S9). Le 2-aminoanthracène (2AA) avec S9 et le 4-nitroquinoline-N-oxyde (4NQO) sans S9 ont servi de substances génotoxiques de référence (témoins positifs). Les concentrations maximales testées étaient de 2,0 µg/mL pour le 2AA et de 0,1 µg/mL pour le 4NQO.

Une culture en phase logarithmique de croissance a servi à préparer les inoculums bactériens avec et sans S9. L'exposition des bactéries et les prises de données ont été effectuées comme suit : les bactéries ont d'abord été exposées aux extraits organiques de sédiment pour une durée de 2 h à 37 °C; les surnageants ont été éliminés par

centrifugation et décantation afin de réduire les possibilités d'interférences au niveau des réactions enzymes-substrats et des lectures colorimétriques; les bactéries ont ensuite été re-suspendues dans un tampon contenant un agent lysant et le substrat approprié à chacune des deux enzymes (*Pal* et β -*gal*); puis les microplaques ont été réincubées à 37 °C pour permettre le développement de la couleur. Les absorbances ont été lues à 405 nm (A_{405}) pour la *Pal* et à 620 nm (A_{620}) pour la β -*gal* avec un spectrophotomètre (Multiskan™, modèle MCC340) spécialement conçu pour la lecture des microplaques.

Les résultats ont été exprimés et interprétés selon les directives qui apparaissent dans la méthode d'EC (1997a), dont nous donnons un bref aperçu. À noter que les valeurs d'absorbance utilisées, c'est-à-dire les A_{405} et les A_{620} , ont été corrigées pour la couleur associée aux extraits.

Pour le paramètre de toxicité, les concentrations relatives de *Pal* ont été exprimées sous forme de rapports appelés facteurs de réduction (FR) :

$$FR = \frac{\overline{\chi}_{(n=4)} A_{405} \text{ du traité}}{\overline{\chi}_{(n=4)} A_{405} \text{ du témoin négatif}}, \text{ où } \boxed{i} = \text{moyenne}$$

Pour la génotoxicité, les concentrations relatives de β -*gal* ont également été exprimées sous forme de rapports. Il s'agit des facteurs d'induction (FI) et des facteurs d'induction corrigés pour la viabilité (FICV) :

$$FI = \frac{\overline{\chi}_{(n=4)} A_{620} \text{ du traité}}{\overline{\chi}_{(n=4)} A_{620} \text{ du témoin négatif}}, \text{ où } \boxed{i} = \text{moyenne}$$

$$FICV = \frac{FI}{FR}$$

Organismes d'essai

La souche *E coli* PQ37 a été obtenue de l'Institut Pasteur (Paris, France). Une culture en phase logarithmique de croissance a servi à préparer les inoculums bactériens. L'exposition des bactéries et les prises de données ont été effectuées comme suit : les bactéries ont d'abord été exposées aux extraits organiques pour une durée de 2 h à 37 °C; les surnageants ont été éliminés par centrifugation et décantation afin de réduire les possibilités d'interférences au niveau des réactions enzymes-substrats et des lectures

colorimétriques; les bactéries ont ensuite été re-suspendues dans un tampon contenant un agent lysant et le substrat approprié à chacune des deux enzymes (*Pal* et β -*gal*); puis les microplaques ont été réincubées à 37 °C pour permettre le développement de la couleur.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-3 est celui proposé par Bombardier et Blaise (2000).

Tableau A-3 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai SOS Chromotest

Type d'essai	Statique, d'une durée de 120 min.
Matrice	Extraits organiques.
Appareillage	Spectrophotomètre (Multiskan™, modèle MCC340) spécialement conçu pour la lecture des microplaques.
Eau de contrôle/de dilution	DMSO (2 % v.v ⁻¹).
Température	37 ± 2° C.
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	La plus forte concentration est habituellement de 45 %, chaque concentration inférieure correspondant à la moitié de la précédente.
Récipient d'essai	Puits de microplaque.
Observations	Absorbances à 405 nm (A_{405}) pour la <i>Pal</i> et à 620 nm (A_{620}) pour la β - <i>gal</i> .
Résultats	<p>Toxicité : La plus petite concentration d'extrait ayant montré un FR égal ou plus petit (\leq) que la plus petite des valeurs entre le seuil d'effet ponctuel (SEP) et le seuil d'effet temporel (SET = 0,90) a été considérée comme la concentration minimale avec effet observé (CMEO). Pour la toxicité, le SEP correspond à la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % des lectures A_{405} du témoin négatif calculé la journée même de l'essai, alors que le SET représente la moyenne historique arrondie des SEP.</p> <p>Génotoxicité : La plus petite concentration d'extrait ayant exhibé un FICV égal ou plus grand (\geq) que la plus grande des valeurs entre le seuil d'effet ponctuel (SEP) et le seuil d'effet temporel (SET = 1,20) a été considérée comme la CMEO. Pour la génotoxicité, le SEP correspond à la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 p.cent des lectures A_{405} du témoin négatif calculé la journée même de l'essai, alors que le SET représente la moyenne historique des SEP à laquelle on ajoute un facteur de sécurité.</p>
Validité de l'essai	<p>Toxicité : un effet toxique ne peut être considéré significatif que si une baisse d'au moins 10 % de l'activité de la <i>Pal</i> se manifeste.</p> <p>Génotoxicité : un effet génotoxique ne peut être considéré significatif que si une augmentation d'au moins 20 % de l'activité de la β-<i>gal</i> survient.</p>

Mutatox

Les essais Mutatox ont été réalisés selon les directives générales de la compagnie Azur Environmental. Ce protocole a cependant été modifié de façon à le réaliser en microplaques de 96 puits (EC, 1998) plutôt que dans des tubes de verres. Les tests ont été initiés dans des microplaques transparentes afin de pouvoir mesurer la densité cellulaire à 600 nm et ainsi déterminer la toxicité des extraits. La trousse commerciale utilisée pour le Mutatox comprenait a) le réactif bactérien lyophilisé, soit *V. fischeri* M169; b) deux milieux d'essai (ME) déshydratés, dont l'un comprend un mélange d'activation pour le dépistage des agents progénotoxiques; et, c) une solution de reconstitution¹⁰. Le nombre de concentrations testées pour le Mutatox a varié entre cinq et huit (Tableau V.4) mais, dans tous les cas, la plus forte concentration représentait une dilution de 1:100 de l'extrait.

En vue de la préparation des microplaques, 15 mL de solution de reconstitution ont été ajoutés à chacune des bouteilles de ME, puis les milieux d'essai ont été combinés dans un bécher de plastique de 50 mL. Des volumes de 2,5 mL du milieu d'essai ont été répartis dans 4 tubes de verre préalablement identifiés. Après avoir réservé un volume de ME pour les témoins négatifs et positifs ainsi que pour les blancs de dilution, le volume résiduel de ME a été ajusté à une concentration de 1 % v.v⁻¹ de DMSO. Des volumes de 225 µL du ME à 1 % v.v⁻¹ DMSO ont été ajoutés dans les puits destinés à recevoir les dilutions en série. Des volumes de 25 µL de chacun des extraits à tester ont été ajoutés aux tubes afin d'obtenir une dilution de 1:100.

Une fois les dilutions préparées et les échantillons déposés dans les puits des microplaques, le réactif bactérien a été reconstitué et ajouté à tous les puits, à l'exception de ceux renfermant les blancs de dilution. Le tableau A-4 indique l'emplacement ou la disposition des divers échantillons, les volumes de réactifs déposés dans les différents puits et le nombre de réplicats par échantillon. Des témoins positifs, soit le 2AA (5 µg/mL) et le N-méthyle-n'-nitro-n-nitrosoguanidine (MNNG à 0,1 µg/mL), ont servi à vérifier la sensibilité des réponses des réactifs bactériens respectivement avec et sans S9.

¹⁰ Solution saline utilisée pour reconstituer le réactif bactérien.

Tableau A-4 : Disposition * des échantillons dans la microplaque pour le test Mutatox

Puits (n ^{os})	Échantillons **
A1 - E1	Témoins négatifs (225 µL de ME + 10 µL de réactif bactérien)
A2 - C2	Témoins de dilution (225 µL de ME + 10 µL de solution de reconstitution)
A3 - H5	Dilutions de l'échantillon n° 1 (225 µL de dilution dans du ME + 10 µL de réactif bactérien)
A6 - H6	Témoins de dilution de l'échantillon n° 1 (225 µL de dilution dans du ME + 10 µL de solution de reconstitution)
A7 - H9	Dilutions de l'échantillon n° 2 (225 µL de dilution dans du ME + 10 µL de réactif bactérien)
A10 – H10	Témoins de dilution de l'échantillon n° 2 (225 µL de dilution dans du ME + 10 µL de solution de reconstitution)
A12 – C12	Témoins positifs dans 225 µL de ME + 10 µL de réactif bactérien

* La même configuration a été adoptée pour les essais avec et sans S9.

** Deux échantillons (désignés n°1 et n° 2) peuvent être analysés simultanément.

Après ces préparatifs, l'essai a été réalisé de la façon suivante. Après l'ajout du réactif bactérien, les microplaques transparentes ont été incubées pendant 20 h à 27 °C (les microplaques avec S9 ont préalablement été incubées pendant 45 min à 35 °C). Pour éviter l'évaporation et la possibilité de contamination durant l'incubation, les puits ont été scellés avec des capuchons pour microtubes. Après l'exposition, les absorbances ont été mesurées à 600 nm (A_{600}) avec un spectrophotomètre (Multiskan™, modèle MCC340). Afin de mesurer la luminescence, les échantillons ont été transférés dans des microplaques opaques et blanches (Falcon™), en respectant la même disposition que pour les microplaques transparentes. Un photomètre conçu pour la lecture des microplaques (Dynatech™, modèle ML1000) a été utilisé. La résolution de l'appareil a été réglée au plus bas niveau et la température de la chambre de lecture à 30 °C. Un délai de 3 min a été accordé avant la lecture des unités relatives de lumière (URL). Les résultats de toxicité et de génotoxicité ont été interprétés ainsi que décrit ci-après.

Pour la toxicité, les A_{600} ont été corrigées en fonction de l'intensité de la couleur des extraits. La baisse de densité cellulaire, qui correspond à la manifestation d'effets toxiques, a été exprimée sous forme de facteurs de réduction (FR) :

$$FR = \frac{\text{médiane}_{(n=3)} A_{600} \text{ du traité}}{\text{médiane}_{(n=5)} A_{600} \text{ du témoin négatif}}$$

Le critère de détection a été arbitrairement fixé à 0,75, ce qui correspond à une baisse de 25 % de la densité cellulaire. Ainsi, la plus faible concentration d'extrait ayant résulté en un $FR \leq 0,75$ a été rapportée comme étant la CMEO.

Pour la génotoxicité, l'activité de luminescence, dont la mesure est exprimée en unités relatives de lumière (URL), a été convertie en facteur d'induction (FI) :

$$FI = \frac{\text{médiane}_{(n=3)} \text{ URL du traité}}{\text{médiane}_{(n=5)} \text{ URL du témoin négatif}}$$

Le critère de détection a été fixé à deux fois la médiane du témoin négatif ou à une valeur FI de 2,0. Par conséquent, la plus faible concentration d'extrait ayant produit une valeur $FI \geq 2,0$ a été rapportée comme étant la CMEO. La réponse génotoxique a été considérée équivoque lorsqu'un $FI \geq 2,0$ a été observé de façon aléatoire, i.e., en l'absence de relation concentration-réponse monotone alors qu'aucune toxicité n'était notée.

Test de fluctuation

Le test de fluctuation a été réalisé selon la méthode de Hubbard *et al.* (1984) adaptée au laboratoire du CSL (EC, 1997b). Le milieu d'essai avec et sans activation métabolique a été réparti en portions de 19,8 mL dans des tubes coniques de 50 mL. À ces tubes ont été ajoutés 200 μL d'extrait et 20 μL d'une culture de TA100 reconstituée durant la nuit. Pour chaque tube, des portions de 200 μL du mélange ont été transférées dans des microplaques de 96 puits. Les microplaques ont été scellées dans des sacs de plastique puis incubées 5 jours à 37 °C. Au terme de la période d'incubation, les puits positifs (jaunes, partiellement jaunes ou turbides) ont été comptabilisés. Pour vérifier la sensibilité de la souche TA100, deux substances mutagènes de référence ont été testées à chaque essai, soit le 4NQO (0,005 $\mu\text{g}/\text{mL}$) et le 2AA (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Trois microplaques ont été préparées pour les témoins (négatifs et positifs) alors qu'une seule l'a été pour les échantillons d'extraits. Une microplaque ne renfermant que le milieu d'essai (i.e., sans

bactéries) a également été préparée à chaque période d'expérimentation essai pour vérifier sa stérilité.

Des échantillons de différentes concentrations ont été testées selon le type d'extrait (F₀, F₁ ou F₂) et selon le milieu d'essai (avec et sans activation métabolique). Des dilutions en série ont été effectuées avec du DMSO dans de petits tubes coniques de 1,5 mL. À cette fin, 500 µL d'extrait ont été transférés dans 500 µL de DMSO et cette opération a été répétée de tube en tube. Des volumes de 200 µL de chacun des extraits ou de chacune des dilutions ont été transférés dans 19,8 mL de milieu d'essai, ce qui représentait une dilution de 1:100.

Le critère de détection a été fixé à une valeur correspondant à une réduction de 50 % du nombre de puits positifs (moyenne de trois microplaques) dans les témoins négatifs. Ainsi, la plus faible concentration d'extrait, dont le nombre de puits positifs était égal ou plus petit que 0,5 fois celui du témoin négatif, a été considérée la CMEO. Une réponse a été qualifiée de positive (+ ou génotoxique) lorsqu'une concentration d'extrait a produit un résultat égal ou plus grand que le critère de détection du test. La génotoxicité ne doit toutefois pas apparaître de façon aléatoire, soit à une plus faible dilution alors qu'aucune toxicité ni génotoxicité n'est observée aux plus fortes concentrations testées, sinon, la réponse est considérée équivoque. Par ailleurs, une réponse a été considérée négative lorsque toutes les concentrations testées pour un extrait ont produit des résultats inférieurs aux critères de détection, et cela même si dans certains cas la toxicité a pu masquer la génotoxicité.

D. BIOESSAI D'INHIBITION DE LA CROISSANCE DE L'ALGUE D'EAU DOUCE *SELENASTRUM CAPRICORNUTUM* (RENOMMÉE *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA ET PSEUDOKIRCHNERIELLA SUBCAPITATA*)

L'essai d'inhibition de la croissance d'algues est un test de dépistage de la phytotoxicité qui est couramment utilisé pour évaluer l'impact des eaux usées (effluents industriels, municipaux) et de contaminants divers. La chlorophycée (*P. subcapitata*) est reconnue sensible aux substances métalliques, aux herbicides et à de nombreuses substances chimiques organiques (Thomas et al., 1986; St-Laurent et Blaise, 1992; Klaine et Lewis,

1995). Bien que cet organisme ait été fréquemment utilisé pour évaluer la qualité de sédiments, la matrice d'essai était généralement un éluatriat (*e.g.*, Ross et al, 1988; Ahlf et al., 1989; Hall et al., 1996). Les éluatriats ont souvent été rapportés comme ayant un effet stimulateur sur la croissance algale, ce qui complique l'interprétation des résultats. Blaise et Ménard (1998) ont mis au point un essai de « contact direct » avec cette algue, basé sur l'inhibition de l'activité des estérases, que nous avons utilisé pour nos travaux.

Organismes d'essai

R. subcapitata est une algue verte (Chlorophyceae) immobile et unicellulaire, en forme de croissant (de 40 à 60 μm^3), qui est présente dans la plupart des eaux douces de l'Amérique du Nord. Sa morphologie uniforme la rend idéale pour les numérations au compteur électronique de particules. Elle s'agglutine rapidement car elle ne possède pas de structures complexes et ne forme pas de chaînes. Sa croissance est suffisamment rapide pour qu'on puisse mesurer avec précision le rendement cellulaire après 72 h de culture.

Conditions d'élevage

La culture d'algues (UTCC 37) utilisées provenait de la collection de culture de l'Université de Toronto (UTCC), Toronto, ON, Canada. La culture initiale a été transférée de façon aseptique dans un milieu de croissance puis remise en suspension afin de constituer une culture mère pour la production des organismes d'essai (consulter EC, 1992, pour une description détaillée de la composition du milieu de croissance). À partir de la culture mère, soit en moyenne dans les quatre à sept jours après l'inoculation, un inoculum de cellules algales est prélevé et transféré aseptiquement dans une fiole Erlenmeyer, puis incubé à 24 ± 2 °C sous une lampe fluorescente assurant un éclairage continu de 4,0 klx à la surface de la fiole. La fiole est placée sur un agitateur continu à environ 100 tr/min. La culture d'algues peut prendre de 7 à 14 j pour atteindre la phase de croissance exponentielle. A ce moment elle est bien verte et sa concentration cellulaire se situe entre 2×10^6 et 3×10^6 cellules/mL.

Conditions d'essai

L'essai de contact direct avec l'algue *R. subcapitata* a été développé par Blaise et Ménard (1998). Il utilise comme paramètre d'effet l'inhibition de l'activité estérasique des cellules après une exposition de 24 h à une matrice sédimentaire. Les estérases sont des enzymes associées à l'activité métabolique et à la viabilité des cellules (Dorsey et al., 1989; Gala et Giesy, 1990). Le bioessai fait appel à un fluorochrome, le diacétate de fluorescéine (FDA), qui n'a aucune propriété fluorescente. Clivée par les estérases, la fluorescéine est libérée dans le cytoplasme des algues. La cytométrie en flux est ensuite utilisée pour générer, chez un certain nombre ($n = 2000$) de cellules algales exposées au sédiment testé, un histogramme de l'intensité relative de la fluorescence émise par la fluoresceine de chaque cellule, qui sera ensuite comparée à celle de cellules algales témoins. Les conditions suivies pour cet essai sont détaillées au Tableau A-6.

Tableau A-6 : Liste de contrôle des conditions d'essai utilisées pour l'essai avec l'algue *Raphidocelis subcapitata*

Type d'essai	Statique, d'une durée de 24 h.
Matrice	Sédiment humide.
Instrumentation	Agitateur rotatif vertical (Caframo™ Reax 2 rotating mixer); Cytomètre en flux (Becton Dickinson) relié à un ordinateur HP (modèle 340).
Eau de contrôle/de dilution	Solution aqueuse composée de 56.6 mg/L NaHCO ₃ .
Température	Température ambiante (22 ± 22 °C).
Éclairage	Lumière ambiante.
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	Sept concentration d'une série géométrique de dilution (10, 5, 2,5, 1,25, 0,63, 0,31, et 0,16 en %) et une solution de contrôle.
Récipient d'essai	Incubation des dilutions : Tubes de verre borosilicaté (20 x 150 mm) Mesure de cytométrie en flux : Tubes de verre borosilicaté (12 x 75 mm).
Observations	Activité estérasique mesurée par fluorescence de la fluorescéine au cytomètre en flux.
Résultats	Perte de fluorescence (%) des algues après 24 h comparée à celles du sédiment témoin; CI50 et intervalles de confiance à 95%; CME0, CSE0, CSE.

E. BIOESSAI *HYDRA ATTENUATA*

Organismes d'essai

L'hydre *Hydra attenuata*, un coelentéré d'eau douce, est utilisé depuis plus de vingt ans pour déceler le potentiel tératogène de composés chimiques (Johnson and Gabel, 1982; Johnson *et al.*, 1982) et d'eaux usées (Fu *et al.*, 1991). En 1994, l'hydre fut utilisée pour prédire la létalité aiguë d'effluents industriels (Fu *et al.*, 1994).

Comparativement à d'autres espèces d'invertébrés, l'hydre est parfois moins sensible, tel que dans le cas des composés organiques (Pollino et Holdway, 1999; Bonnet), ou au moins aussi sensible, tel que pour les métaux (Trottier et Blaise, 1997, Beach et Pascoe, 1998; Pollino et Holdway, 1999; Bonnet). L'étude de la toxicité de mélanges complexes, comme les eaux naturelles (Fu *et al.*, 1991), les effluents miniers, urbains ou industriels (Fu *et al.*, 1994; Rippon *et al.*, 1994; Blaise et Kusui, 1997; Trottier, 1997; Trottier *et al.*, 1997) et les eaux interstitielles de sédiments (Côté *et al.*, 1998a, 1998b) confirme la sensibilité de cet organisme à ce type d'échantillons. L'hydre est également sensible à l'ammoniac, contaminant fréquemment présent dans de nombreux échantillons, contaminés ou non, incluant les sédiments (Rippon *et al.*, 1994; Côté *et al.*, 1998a).

Plusieurs avantages favorisent l'emploi de ce coelentéré d'eau douce. En effet, il s'avère représentatif du milieu aquatique, ses conditions d'élevage sont simples et son taux de reproduction est rapide. Par ailleurs, sa structure primaire (ectoderme, endoderme) favorise les échanges intra- et intercellulaires supportent. Ces raisons suggèrent que l'hydre peut constituer un outil adéquat pour la détection de critères d'effet (sub)létaux (Trottier, 1996).

Conditions d'élevage

L'élevage de *H. attenuata* se fait en laboratoire avec une photopériode de 16 h (jour) : 8 h (nuit). On utilise un milieu liquide synthétique dit «milieu hydre» exempt de contaminants, lequel est également utilisé comme eau de contrôle et de dilution. Son pH est ajusté à $7,0 \pm 0,1$ avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH 1N) et son osmolarité est fixée entre 3-7 milliosmoles. Carnivores, les hydres sont alimentées tous les jours avec des larves d'*Artemia salina*. L'entretien des élevages est relativement simple, mais on

doit être vigilant car la croissance des organismes peut être perturbée par la présence de bactéries ou de moisissures, ce qui nécessite le renouvellement journalier du milieu hydre.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-7 est celui proposé par Trottier et al. (1997).

Tableau A-7 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai avec *Hydra attenuata*

Type d'essai	Statique, d'une durée de 96 h.
Matrice	Eau interstitielle.
Température	20 ± 1° C
Éclairage	Photopériode 16h (lumière du jour) – 8h (noirceur)
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	Au moins sept concentration d'une série de dilution (100, 50, 25, 12,5, etc.) et une solution de contrôle.
Récipient d'essai	Microplaques de 12 puits (Falcon® n°3043)
Observations	Morphologie à 24, 48, 72 et 96 h au microscope (grossissement 6x-10x).
Résultats	CSEO, CMEO, CSE. La CSEO se rapporte à la plus faible concentration où l'on observe moins de 2 hydres anormales au stade bulbé ou court (sublétaleté), ou encore au stade tulipe ou désagrégé (létaleté). La CMEO correspond à la plus faible concentration à laquelle on observe au moins 2 hydres anormales au stade bulbé ou court (sublétaleté), ou encore au stade tulipe ou désagrégé (létaleté). sont considérés non viables et servent à calculer la valeur de la CL ₅₀ . La CSE se calcule à partir de la CSEO et de la CMEO, selon la formule établie par la U.S. EPA (1989) qui suit : $CSE = (CSEO \times CMEO)^{1/2}$
Validité de l'essai	> 90% survie chez les organismes témoins.

Exposée à une substance toxique, l'hydre peut d'abord exhiber des signes croissants d'intoxication sublétaleté (tentacules bulbés jusqu'à l'apparition d'un état raccourci ou contracté) et ensuite létaleté (le stade «tulipe» qui entraîne la mort de l'organisme). Une contraction laissant apparaître de petites sphères aux extrémités des tentacules est le premier signe d'un effet agressant (Figure A-1). Une toxicité accrue des solutions d'essai se traduira par un léger raccourcissement des tentacules (Figure A-1) jusqu'à une

contraction complète (stade «tulipe»). Le stade «tulipe» correspond au paramètre d'effet létal de l'essai. La mort de l'organisme se traduit éventuellement par sa désintégration.



Figure A-1 : Signes d'intoxication à une matrice contaminée
(reproduit de Trottier et al., 1997)

F. BIOESSAI OURSIN

Les oursins appartiennent à l'embranchement des Échinodermes et au sous-embranchement des Échinides. L'essai estimant la fécondation des oursins, tel que celui réalisé dans le cadre de cette étude, est sensible. Par exemple, des effluents municipaux ont produit un effet marqué sur la fécondation des œufs à une concentration dix fois moins élevée que celle qui avait causé la mort de 50% des têtes-de-boule lors d'un essai de quatre jours (Oshida et al., 1981). Des six essais de sublétalité réalisés dans le cadre d'une étude interlaboratoire sur la toxicité des effluents en Californie, l'essai sur la fécondation des oursins se classait au dixième ou au troisième rang pour ce qui est de la sensibilité (Anderson et al., 1991). Dans une autre étude (Nacci et al., 1986), on a obtenu des résultats variables quant à la toxicité comparée de composés métalliques et de composés organiques selon qu'il s'agissait d'un essai sur la fécondation, d'un essai de luminescence bactérienne, ou d'essais de létalité sur des poissons et des crustacés. L'essai avec échinides pouvait être dix, cent ou mille fois plus sensible, et dans certains cas, dix fois moins sensible que les autres.

Au final, on reconnaît la sensibilité de cet essai de sub-létalité. Les gamètes et le sperme correspondent à l'un des stades de développement les plus vulnérables du cycle de vie de l'oursin, si ce n'est le plus sensible, aux différents produits toxiques utilisés lors des essais (Koyabashi, 1980; 1984). Cependant, comme sa durée d'exposition est très courte (20 min), il ne peut mettre en évidence des effets chroniques. L'essai se caractérise donc

par sa rapidité et sa simplicité, ne nécessitant pas d'installations ou d'équipements particuliers.

Organismes d'essai

L'oursin blanc, *Lytechinus pictus*, figure sur la liste des échinides couramment utilisés pour les essais de toxicité en laboratoire. Tous les gamètes matures servant aux essais provenaient d'adultes d'une même source. Il importe d'utiliser des gamètes matures afin d'assurer des taux de fécondation élevés et des résultats concluants. Les spermatozoïdes matures sont de taille minuscule et deviennent très actifs dans l'eau de mer, tandis que les œufs matures deviennent sphériques. Les œufs immatures se distinguent par la présence d'une tache claire dans leur cytoplasme.

Conditions d'élevage

On garde les groupe d'oursins mâles et femelles isolés en réservoirs afin d'obtenir les gamètes nécessaires aux essais. Il n'existe aucune restriction quant à la durée de conservation requise pour obtenir une production de gamètes. Il est toutefois souhaitable de garder les organismes pendant trois ou quatre jours à la température de l'essai et dans l'eau qui sera utilisée pour les contrôles et les dilutions avant de procéder à l'essai (EC, 1992). Il importe également de manipuler les échinides avec soin afin de leur éviter des chocs. Il faut porter une attention particulière à la température de stabulation qui peut déclencher la ponte à un moment qui ne serait pas opportun pour les essais (Dinnel et Stober, 1985).

Les organismes adultes ont été maintenus dans des bassins faits de matériaux non toxiques, dont la profondeur de l'eau était d'environ 20 cm. L'eau a été renouvelée périodiquement afin d'éviter l'accumulation de déchets métaboliques. La salinité de l'eau reconstituée se situait entre 30 et 32 g/kg. La température de l'eau était maintenue à $20 \pm 1^\circ \text{C}$. Le taux de mortalité dans les groupes d'oursins destinés à produire des gamètes n'a pas dépassé 2% par jour en moyenne pendant les sept jours précédant la collecte des gamètes.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-8 est celui qui a été proposé par EC (1992b).

Tableau A-8 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai avec *Lytechinus pictus*

Type d'essai	Statique, exposition du sperme pendant 10 min suivi d'une exposition pendant 10 min du sperme et des œufs pour les fins de fécondation.
Matrice	Eau interstitielle.
Eau de contrôle/de dilution	Eau de mer reconstituée
Température	20 ± 1° C
Éclairage	Normal du laboratoire.
Oxygène/aération	Aucune.
Préparation des solutions d'essai	Une seule concentration, et une solution de contrôle.
Récipient d'essai	Récipient en verre contenant un volume de 10 mL de solution d'essai.
Résultats	Pourcentage de fécondation.
Validité de l'essai	Taux de fécondation moyen dans le contrôle ≥50%.

G. BIOESSAI *CHIRONOMUS RIPARIUS*

Organismes d'essai

L'espèce *Chironomus tentans*, tout comme sa congénère *C. tentans* (diptères : Chironomidae), est une mouche non piqueuse communément appelée chironome. Un nombre imposant d'auteurs ont rapporté l'utilisation de larves de *C. riparius* ou de *C. tentans* pour la mesure de la toxicité d'échantillons de sédiments (e.g., Giesy *et al.*, 1990 ; Othoudt *et al.*, 1991 ; Ankley *et al.*, 1993 ; Becker et Biggam, 1993 ; Call *et al.*, 1993b ; Sibley *et al.*, 1993 ; Kemble *et al.*, 1994 ; Becker *et al.*, 1995 ; Day *et al.*, 1995a et b ; Reynoldson *et al.*, 1995 ; Bedard et Ali, 1996 ; Burton *et al.*, 1996 ; Milani *et al.*, 1996). La U.S. EPA et le *United States Army Corps of Engineers* (U.S. EPA/US ACE, 1994) ont recommandé l'emploi de *C. tentans* et/ou *C. riparius* pour l'évaluation de la toxicité aiguë ou chronique des déblais de dragage. L'espèce *C. riparius* a été utilisée dans le cadre de cette étude.

Plusieurs études ont porté sur la sensibilité relative des larves de chironomes vis-à-vis des produits chimiques, à l'eau de porosité ou à des sédiments entiers. Dans des essais comparatifs n'employant que de l'eau et utilisant un certain nombre d'espèces d'invertébrés dulçaquicoles, y compris des amphipodes, la sensibilité des larves de *C. riparius* a parfois été démontrée faible (Green *et al.*, 1985 ; Williams *et al.*, 1985) ou intermédiaire (Green *et al.*, 1986 ; Williams *et al.*, 1986a ; Brown et Pascoe, 1988). Cependant, ces essais avaient employé des larves de chironomes des troisième et quatrième stades. Des essais comparatifs d'exposition, sur de courtes et de longues périodes, de larves du premier ou du deuxième stade de *C. tentans* ou de *C. riparius* à de l'eau seulement ont montré qu'elles étaient souvent au moins aussi sensibles que les daphnies ou les amphipodes (Cairns *et al.*, 1984 ; Ingersoll *et al.*, 1990 ; Schubauer-Bergigan et Ankley, 1991 ; Taylor *et al.*, 1991a ; Suedel *et al.*, 1993a ; Phipps *et al.*, 1995). Les essais mesurant la survie ou la croissance/survie après exposition prolongée (≥ 10 j) réalisés sur des sédiments contaminés prélevés *in situ* ou sur des sédiments enrichis ont également révélé que les larves de *C. tentans* ou de *C. riparius* du premier ou du deuxième stade pouvaient être au moins aussi sensibles que les daphnies (*Daphnia magna*) ou les amphipodes (*Hyaella azteca*), selon la nature des échantillons comparés (Ingersoll et Nelson, 1990 ; Othoudt *et al.*, 1991 ; West *et al.*, 1993 ; US EPA, 1994a). Dans les publications techniques, on ne trouve aucune comparaison de sensibilité des larves de *C. tentans* et de *C. riparius* pour les sédiments. Les organismes d'élevages utilisés pour réaliser les essais dans le cadre de la présente étude ont été fournis par le laboratoire régional d'EC à Vancouver.

Conditions d'élevage

Les organismes sont maintenus en eau de mer reconstituée¹¹ ou en eau de mer naturelle non contaminée, sous un éclairage constant et continu (500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau dans les récipients de détention) pendant toute la période de détention à une température de $23 \pm 3^\circ\text{C}$. L'eau de mer recouvrant les sédiments dans le bassin de

¹¹ Eau préparée en ajoutant, en quantité suffisante pour la salinité souhaitée, de la saumure hyperconcentrée (SHC) à de l'eau douce de qualité suffisante. L'eau de mer reconstituée doit être filtrée (≤ 5 mm) peu avant de l'utiliser pour la débarrasser des particules en suspension, et être utilisée dans les 24 h suivant la filtration (US EPA, 1994a).

détention doit avoir une teneur en oxygène dissous de 80 à 100 % de la valeur de saturation de l'air. Cette valeur est assurée grâce à une légère aération de l'eau de mer à l'aide d'air comprimé filtré.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-9 est celui proposé par EC (1997). Au début de l'essai, les larves de *C. riparius* doivent être au troisième stade¹². Il faut mesurer la largeur de la capsule céphalique (au moyen d'un microscope à dissection) d'au moins 20 larves choisies au hasard parmi les organismes prélevés dans l'élevage au jour 0 en vue de l'essai, afin d'en confirmer le stade larvaire. Il est alors aussi souhaitable d'en mesurer le poids sec ou la longueur (US EPA, 1994a).

Tableau A-9 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai avec *C. riparius*

Type d'essai	Statique, d'une durée de 10 jours.
Matrice	Sédiment entier.
Sédiment de contrôle	Sédiments non contaminés provenant généralement du site de prélèvement des organismes d'essai. On les passe à travers un tamis 'a mailles de 0,5 mm avec de l'eau d'essai. Le volume et l'épaisseur dans les récipients d'essai sont de 175 mL et ≈ 2 cm, respectivement.
Température	$23 \pm 3^\circ\text{C}$.
Éclairage	Éclairage constant par le haut (fluorescent ou à spectre étendu); 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.
Oxygène/aération	Aérer l'eau dans les récipients d'essai pendant la nuit précédent l'essai et tout au long de l'essai; l'aération est continue (90 à 100 % de la valeur de saturation en air) et se fait à un rythme modéré (e.g., 2 à 3 bulles/s).
Préparation des solutions d'essai	Les échantillons ne sont pas tamisés mais homogénéisés. On prépare ± 5 échantillons distincts de sédiments prélevés au même endroit.
Nombre d'organisme par récipient	10 chironomes sont introduits dans chaque récipient d'essai le jour de l'essai.
Alimentation	Flocons moulus de nourriture pour poissons tropicaux (e.g., Tetrafin ^{MC} ou Nutrafin ^{MC}), distribués journalièrement, à raison de 6,0 mg de matières sèches dans une suspension de 1,5 mL, par enceinte expérimentale ou quatre fois seulement (en journées non consécutives), à raison de 15,0 mg de matières sèches dans une suspension de 3,75 mL versée dans chaque enceinte, à chaque repas.
Récipient d'essai	Bécher ou bocal de verre de 300 mL; diamètre interne de 7 cm environ, non couvert.

¹². *C. tentans* doit être au troisième stade (ou à un stade moins avancé) au début de l'essai, mais au moins la moitié des organismes devrait avoir atteint le troisième stade, selon la recommandation de la U.S. EPA (1994a) et de l'ASTM (1995a).

Observations	À la fin de l'essai, la mortalité est observée dans chaque récipient d'essai.
Résultats	Pour chaque traitement, pourcentage moyen (\pm écart type) de chironomes vivants après 10 jours d'exposition.
Validité de l'essai	Taux de survie moyen dans les sédiments de contrôle après 10 jours de $\geq 70\%$.

H. *HYALLELA AZTECA*

Les essais de sédiments effectués sur des amphipodes sont maintenant reconnus et acceptés comme outils efficaces permettant de déterminer la contamination de sédiments, qu'ils proviennent d'eaux douces, estuariennes ou marines. Les amphipodes constituent un groupe abondant dans les communautés benthiques et sont une source importante de nourriture pour de nombreuses espèces de poissons, d'oiseaux et de gros invertébrés. Bien que certaines espèces se nourrissent d'invertébrés benthiques de plus petite taille, plusieurs amphipodes sont fouisseurs ou tubicoles. Ces derniers ingèrent des particules de sédiments et sont ainsi directement exposés aux contaminants qui s'y trouvent associés.

En 1994, la U.S. EPA a publié une méthode de mesure de la toxicité des sédiments employant *H. azteca*¹³ (U.S. EPA, 1994a). Le Comité E47 de l'ASTM (ASTM, 1995a) a adopté cet essai comme méthode normalisée. La méthode utilisée dans le cadre de nos travaux (Environment Canada, 1997) s'inspire des modes opératoires d'élevage et d'essai d'*H. azteca* énoncés dans U.S. EPA (1994a), sauf qu'au lieu de durer 10 j et n'être axé que sur la survie de l'amphipode, la méthode d'EC dure 14 j et porte sur *la survie et la croissance*.

De nombreux chercheurs ont utilisé *H. azteca* pour évaluer la toxicité d'échantillons entiers de sédiment d'eau douce (e.g., Nebeker *et al.*, 1984 ; Borgmann et Munawar, 1989 ; Burton *et al.*, 1989 ; Ingersoll et Nelson, 1990 ; Ankley *et al.*, 1993a et b ; Borgmann et Norwood, 1993 ; Kubitz, 1993a ; Kubitz *et al.*, 1993 ; Sibley *et al.*, 1993 ; West *et al.*, 1993 ; Burton et Ingersoll, 1994 ; Burton *et al.*, 1996 ; Kemble *et al.*, 1994 ; Pastorok *et al.*, 1994 ; Becker *et al.*, 1995 ; Ingersoll *et al.*, 1995 ; Kubitz *et al.*, 1995, 1996 ; Reynoldson *et al.*, 1995 ; Milani *et al.*, 1996). Kemble *et al.* (1994) ont comparé la sensibilité de *H. azteca*, *C. riparius*, *D. magna* et de la truite arc-en-ciel à des sédiments

¹³. Préparé par le *United States Freshwater Sediment Toxicity Assessment Committee*, ce rapport (U.S. EPA [1994a], reflétait le consensus des chercheurs américains et canadiens activement engagés dans les dosages biologiques de la toxicité des sédiments à l'aide de *H. azteca* (Ingersoll, 1992 ; Norberg-King, 1992 ; Burton et Ingersoll, 1994 ; Ingersoll *et al.*, 1995 ; Burton *et al.*, 1996).

contaminés par des métaux. Basé sur la longueur, la maturation sexuelle et le taux de survie des organismes exposés durant 28 j, *H. azteca* s'est révélé le plus sensible des quatre espèces (le paramètre « longueur » ayant été rapporté le plus sensible). Selon une autre étude portant sur des sédiments contaminés des Grands lacs, *H. azteca* était parmi les 24 organismes les plus sensibles et les plus discriminants (Burton et Ingersoll, 1994 ; U.S. EPA, 1994a).

Organismes d'essai

Hyalella azteca est un amphipode détritivore épibenthique et fouisseur des sédiments d'eau douce. Il vit dans les cours d'eau lents, les lacs et les étangs tempérés. Il est inféodé à la couche supérieure de 1 ou de 2 cm des sédiments. Dans les habitats qu'il préfère, sa densité a atteint plus de 10 000 sujets au mètre carré. On peut également le trouver, en nombres moins élevés, dans les terrains marécageux, les fossés, les sources, les cours d'eau et les marécages (U.S. EPA, 1994a). L'espèce est largement distribuée en Amérique du Nord. On l'a trouvée dans les sédiments superficiels des lacs du Guatemala et des Antilles jusqu'à Inuvik dans les Territoires du Nord-Ouest (de March, 1981).

Les amphipodes dulçaquicoles, y compris *H. azteca*, sont une importante source de nourriture pour de nombreux poissons, oiseaux aquatiques, échassiers, salamandres et gros invertébrés (de March, 1981). Selon sa taille et son état de santé, cet amphipode peut produire et libérer de 1-50 jeunes à chacune de ses périodes de reproduction. À 25 °C, *H. azteca* atteint la maturité sexuelle entre 28 et 33 j (de March, 1981 ; U.S. EPA, 1991a et b).

Conditions d'élevage

Il faut favoriser l'emploi de jeunes entre 2 et 9 j élevés en laboratoire. Tous les amphipodes utilisés dans un essai doivent provenir de la même population. Les géniteurs utilisés pour établir les élevages provenaient du Laboratoire de toxicologie d'EC (Moncton, Nouveau-Brunswick, Canada).

L'éclairage devrait être vertical et en spectre continu (fluorescents ou l'équivalent). La photopériode devrait être fixée à 16 h. L'intensité lumineuse à proximité de la surface de l'eau des enceintes devrait varier de 500 à 1 000 lux (U.S EPA, 1994a).

Les organismes sont maintenus dans une eau reconstituée d'une dureté de 90 à 100 mg de CaCO₃ par litre, à une température de 23 ± 3 °C, et un éclairage de 500 à 1 000 lux immédiatement au-dessus de la surface de l'eau (photopériode de 16 h).

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-10 est celui qui a été proposé par EC (1997).

Tableau A-10 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai avec *Hyallela azteca*

Type d'essai	Statique, d'une durée de 14 jours.
Matrice	Sédiment entier.
Sédiment de contrôle	Sédiments non contaminés provenant généralement du site de prélèvement des organismes d'essai. On passe à travers un tamis à mailles de 0,5 mm avec de l'eau d'essai. Le volume et l'épaisseur dans les récipients d'essai sont de 175 mL et ≈ 2 cm, respectivement.
Température	23 ± 3°C.
Éclairage	Éclairage constant par le haut (fluorescent ou à spectre étendu); 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.
Oxygène/aération	Aérer l'eau dans les récipients d'essai pendant la nuit précédent l'essai et tout au long de l'essai; l'aération est continue (90 à 100 % de la valeur de saturation en air) et se fait à un rythme modéré (<i>e.g.</i> , 2 à 3 bulles/s).
Préparation des solutions d'essai	Les échantillons ne sont pas tamisés mais homogénéisés. On prépare ± 5 échantillons distincts de sédiments prélevés au même endroit.
Nombre d'organisme par récipient	10 amphipodes sont ajoutés dans chaque récipient d'essai le jour de l'essai. On laisse les amphipodes 1 h afin de leur permettre de s'enfouir dans le substrat. Si les sujets ne sont pas enfouis après cette période, ils sont remplacés.
Alimentation	Suspension aqueuse de nourriture pour truites, distribuée journallement (1,5 mL [environ 2,7 mg de nourriture solide, poids sec] chaque jour dans chaque enceinte), ou trois fois par semaine, en journées non consécutives (3,5 mL [environ 6,3 mg, poids sec] dans chaque enceinte).
Récipient d'essai	Bécher ou bocal de verre de 300 mL; diamètre interne de 7 cm environ, non couvert.
Observations	Survie et poids notablement inférieurs à ceux des organismes témoins et des enceintes de référence (d'après le pourcentage moyen de survie et poids sec moyen, dans chaque enceinte ; CL50 après 14 j d'exposition à une série de concentrations, s'il y a lieu ; CIP pour le gain de poids, s'il y a lieu.
Résultats	Pour chaque traitement, pourcentage moyen (± écart type) de chironomes vivants après 10 jours d'exposition.
Validité de l'essai	Taux de survie moyen dans les sédiments de contrôle après 14 jours de ≥ 80%.

I. AMPHIPOREIA VIRGINIANA

Le bioessai avec *A. virginiana* est utilisé depuis plusieurs années, du moins au Canada (e.g., Chapman et al., 1982; Chapman et Fink, 1983). Un certain nombre de chercheurs canadiens ont recommandé que cet essai soit utilisé de façon courante pour la mesure et l'évaluation de la toxicité de sédiments marins (Konasewich et al., 1986; Chapman, 1988; Cross et al., 1991).

Organismes d'essai

L'amphipode *A. virginiana* est très sensible au choc thermique et à la manipulation (Doe et Wade, 1991; Paine et McPherson, 1991a, 1991b). Par conséquent, des soins particuliers doivent être apportés lors du prélèvement, du transport et de l'acclimatation de cette espèce en laboratoire. Les amphipodes utilisés pour les bioessais provenaient d'une population établie au laboratoire d'EC, région des Maritimes.

Conditions d'élevage

Les organismes sont maintenus en eau de mer reconstituée¹⁴ ou en eau de mer naturelle non contaminée, sous un éclairage constant et continu (500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau dans les récipients de détention) pendant toute la période de détention, et à une température de $10 \pm 2^\circ\text{C}$ (Doe et Wade, 1991). L'eau de mer recouvrant les sédiments dans le bassin de détention doit avoir une teneur en oxygène dissous de 90 à 100 % de la valeur de saturation en air. Cette valeur est assurée grâce à une légère aération de l'eau de mer à l'aide d'air comprimé filtré.

Conditions d'essai

Le protocole d'essai décrit au Tableau A-11 est celui qui a été proposé par EC (1992). Le jour où l'essai est mis en route, les organismes sont tamisés des sédiments à même le bassin de détention. Avant de procéder à l'essai, chaque échantillon de sédiments d'essai doit être bien mélangé pour obtenir un mélange homogène, de couleur, texture et teneur

¹⁴ Eau préparée en ajoutant, en quantité suffisante pour la salinité souhaitée, de la saumure hyperconcentrée (SHC) à de l'eau douce de qualité suffisante. L'eau de mer reconstituée doit être filtrée (≤ 5 mm) peu avant de l'utiliser pour la débarrasser des particules en suspension, et être utilisée dans les 24 h suivant la filtration (EPA, 1994 dans RM26).

en eau constantes. Immédiatement après le mélange, une aliquote de 175 mL est ajoutée dans chaque récipient d'essai. Afin de minimiser la perturbation des sédiments au moment où on ajoute l'eau d'essai, on place à la surface des sédiments un disque en polyéthylène, en nylon ou en Teflon^{MC} (épaisseur de 0,10 à 0,15 mm). L'eau d'essai est alors ajoutée en quantité suffisante pour atteindre la marque de 750 mL sur le côté du récipient. Le disque est enlevé et rincé avec de l'eau d'essai entre les répétitions de chaque traitement. Pour chacun, on prépare au moins cinq réplicats avec renouvellement du disque.

Tableau A-11 : Liste de contrôle des conditions utilisées pour l'essai avec *Amphiporeia virginiana*

Type d'essai	Statique, d'une durée de 10 jours.
Matrice	Sédiment entier.
Sédiment de contrôle	Sédiments non contaminés provenant généralement du site de prélèvement des organismes d'essai. On passe à travers un tamis à mailles de 0,5 mm avec de l'eau d'essai. Le volume et l'épaisseur dans les récipients d'essai sont de 175 mL et ≈ 2 cm, respectivement.
Température	$10 \pm 2^\circ\text{C}$.
Éclairage	Éclairage constant par le haut (fluorescent ou à spectre étendu); 500 à 1000 lux adjacent à la surface de l'eau de recouvrement dans les récipients d'essai.
Oxygène/aération	Aérer l'eau dans les récipients d'essai pendant la nuit précédent l'essai et tout au long de l'essai; l'aération est continue (90 à 100 % de la valeur de saturation en air) et se fait à un rythme modéré (<i>e.g.</i> , 2 à 3 bulles/s).
Préparation des solutions d'essai	Les échantillons ne sont pas tamisés mais homogénéisés. On prépare ± 5 échantillons distincts de sédiments prélevés au même endroit.
Nombre d'organisme par récipient	20 amphipodes sont ajoutés dans chaque récipient d'essai le jour de l'essai. On attend 1 h afin de permettre aux amphipodes de s'enfouir dans le substrat. S'ils ne sont pas enfouis après cette période, ils sont remplacés.
Alimentation	Aucune.
Récipient d'essai	Bécher ou bocal de verre de 1 l; diamètre interne de 10 cm environ
Observations	À la fin de l'essai, la mortalité est observée dans chaque récipient d'essai.
Résultats	Pour chaque traitement, pourcentage moyen (\pm écart type) d'amphipodes vivants après 10 jours d'exposition.
Validité de l'essai	Taux de survie moyen dans les sédiments de contrôle après 10 jours de $\geq 80\%$.

**Annexe 2 – The SED-TOX Index for Toxicity
Assessment of Contaminated Solid
Matrices. (Bombardier, 2005).**

Annexe 3 – Illustration des Calculs du SED-TOX

A. Démonstration avec un échantillon prélevé à l'Anse-à-Beaufils (voir Chapitre 5 de cet ouvrage)

Détails de chacune des étapes du calcul

1. A partir des données sur les proportions d'humidité totale et résiduelle (i.e. perdue par séchage du sédiment centrifugé), on détermine les proportions occupées par les diverses composantes sédimentaires, comme suit :

Site	No. éch.	Humidité		Composantes sédimentaires		Sédiments secs
		totale (tm)	résiduelle (rm)	Eau centrifugeable	Eau non-centrifugeable (v)	
Immersion	32	0,41	0,26	0,20	0,21	0,59
Moyenne ¹ ()		0,44	0,28	0,24	0,21	0,56

¹ moyenne des valeurs pour tous les échantillons à l'étude.

Calculs :
 $z = 1 - tm$
 $y = (rm * z) / (1 - rm)$
 $x = 1 - (y + z)$

Par exemple (échantillon 32):
 $z = (1 - 0,41) = 0,59$
 $y = (0,26 * 0,59) / (1 - 0,26) = 0,21$
 $x = 1 - (0,21 + 0,59) = 0,20$

2. Calcul des limites de détection (L_{tox} ou niveaux de toxicité minimale détectable) :

	Eau interstitielle (EI)		Sédiments solide-humide		Extrait organique (EO)		Sédiments entiers (SE)
	Microtox [®]	Oursins	STP	DSTTP	Microtox [®]	SOS	Amphipode
	CI50	CI25	CI50	CI100	CI50	CSE	survie
	% v/v	% v/v	mg/L	% w/v	µl/ml	µl/ml	%
C_{max} (ou R_{max}) ²	100	100	100,000	100	10	10	100
D	1	1	10	10	100	100	1
R_{min}	—	—	—	—	—	—	69
L_{tox}	0.4	0.4	13.8	13.8	178.5	178.5	1.4

$$L_{tox} = D * \frac{\bar{P}}{\bar{z}}$$

note : pour EI $\bar{P} = \bar{x}$
 pour EO, SE $\bar{P} = 1$
 pour SH $\bar{P} = \bar{v} + \bar{z}$
 Par exemple (Microtox - EI):

$$L_{tox} = 1 * \frac{0.24}{0.56}$$

² C_{max} : plus forte concentration testée ; D : facteur de dilution; R_{max} : valeur maximale de survie possible dans les essais binaires; R_{min} : % de survie minimum désignant un échantillon non toxique; L_{tox} : limite de détection de l'essai.

DSTTP = direct solid phase toxicity testing procedure (Toxi-Chromotest).

STP = test Microtox[®] sur phase solide-humide.

3. Conversion des résultats de toxicité (C_{tox}) en unités toxiques (UT) et expression des résultats en fonction du poids sec de sédiments (UT_{sec}):

Site	No. éch.	Eau interstitielle (p=x) ³					
		Microtox®			Oursins		
		CI50			CI25		
		%v/v	U _{Hum}	UT _{sec}	%v/v	U _{Hum}	UT _{sec}
Immersion	32	> 100	1	0.3 (ND)	56	1.8	0.7

$$UT_{hum} = \frac{C_{max} \times D}{C_{tox}}$$

$$UT_{sec} = UT_{hum} \times \frac{p}{z}$$

e.g., Microtox (EI):

$$UT_{hum} = \frac{100\%v/v \times 1}{100\%v/v}$$

$$UT_{sec} = 1 \times \frac{0.20}{0.59}$$

p = somme des composante (i.e., x, y et/ou z) qui se retrouvent dans la phase sédimentaire utilisée pour réaliser le bioessai. Dans le cas de l'eau interstitielle, p = x (voir valeur de x à l'étape 1 décrite dans ce tableau).

4. Détermination du facteur d'accroissement de la toxicité (FAC), ou ratio entre la toxicité mesurée (en UT_{sec}) et la toxicité minimale observable (L_{tox} – calculée à l'étape 2 ci-dessus) :

Site	No. éch.	EI		EO		SH	SE	FAC = $\frac{UT_{sec}}{L_{tox}}$
		Microtox®	Oursins	Microtox®	SOS	STP	Amphipodes	
Immersion	32	0	1	1	3	9	0	e.g., Oursins: FAC = 0.7/0.4

5. Calcul de la moyenne cumulée de la toxicité phasique (CAPT), à partir de la moyenne pondérée de la toxicité phasique⁴, du facteur de sensibilité⁵ défini pour chacune des phases sédimentaires, et du facteur de redondance (r)⁶ des phases utilisées dans l'évaluation toxicologique :

Site	No. éch.	EI	SH	EO	SE	CAPT	n
Immersion	32	1	9	0	0	3	3

$$CAPT = \frac{(a \frac{\sum FAC(EI)}{N(EI)} + b \frac{\sum FAC(SH)}{N(SH)} + c \frac{\sum FAC(EO)}{N(EO)} + d \frac{\sum FAC(SE)}{N(SE)})}{r}$$

$$= \frac{(1 [2/2] + 1 [9/1] + 0.1 [4/2] + 1 [0/1])}{3}$$

⁴ $\sum FAC/N$, ou FAC est calculé à l'étape 4, et N correspond au nombre de bioessais réalisés avec la phase sédimentaire d'intérêt.

⁵ Par défaut, toutes les phases sont attribuées un facteur de sensibilité de 1, à l'exception de l'extrait organique (EO) qui a un facteur de 0,1.

⁶ Deux phases sédimentaires sont considérées redondantes si elles sont constituées de compartiments sédimentaires identiques. C'est le cas pour l'extrait organique et le sédiment entier, qui comprennent tous les deux les compartiments x, y et z. On leur attribue chacun une valeur r = 1. La phase EI (constituée de la composante x) prend une valeur de r = 0,33, alors que la phase SH (qui est composé de x et y) prend la valeur de 0,66. Dans le cas de l'échantillon 32 illustré ici, ou les phases EI, SH, EO et SH ont été testées, r=3.

n : nombre de phases sédimentaires ayant révélé de la toxicité

6. Calcul des indices SED-TOX, à partir de la moyenne cumulée de la toxicité phasique (CAPT, voir étape 5) et du nombre de phases sédimentaires ayant révélé de la toxicité (n)

Site	No. éch.	Toximesure	Score SED-TOX
Immersion	32	10	1.0

$$\text{Toximesure} = 1 + (n \times \text{CAPT})$$

$$\text{SED-TOX} = \log_{10} [1 + n(\text{CAPT})]$$

B. Démonstration avec un échantillon prélevé à l'île aux Corbeaux (voir Chapitre 6 de cet ouvrage)

Détails de chacune des étapes du calcul

1. A partir des données sur les proportions d'humidité totale et résiduelle (i.e. perdue par séchage du sédiment centrifugé), on détermine les proportions occupées par les diverses composantes sédimentaires, comme suit :

Série	No. Éch.	Humidité		Composantes sédimentaires			Calculs :
		totale (tm)	résiduelle (rm)	Eau centrifugeable (x)	Eau non-centrifugeable (y)	Sédiments secs (z)	
A	4-6	0,34	0,25	0,12	0,22	0,66	z = 1 - tm y = (rm*z)/(1-rm) x = 1 - (y+z)
Moyenne	(\bar{x}) ¹			0,49	0,13	0,38	Par exemple (échantillon 32): z=(1-0,34) = 0,66 y=(0,25*0,66)/(1-0,25) = 0,22 x=1-(0,22+0,66) = 0,12

¹ moyenne des valeurs pour tous les échantillons à l'étude.

2. Calcul des limites de détection (L_{tox} ou niveaux de toxicité minimale détectable) :

	Eau interstitielle (EI)			Sédiments entiers (SE)	
	Thamnotox CL50 %	Hydres CSE % v/v	Microtox CSE % v/v	<i>C. tentans</i> Survie %	<i>H. azteca</i> Survie %
C_{max} (ou R_{max}) ²	100	100	100	100	100
D	1	1	1	1	1
Rmin				69	69
L_{tox}	1,29	1,29	1,29	1,4	1,4

² Cmax : plus forte concentration testée ; D : facteur de dilution; Rmax : valeur maximale de survie possible dans les essais binaires; Rmin : % de survie minimum désignant un échantillon non toxique; Ltox : limite de détection de l'essai.

$$L_{tox} = \frac{D * \bar{P}}{\bar{z}}$$

note : pour EI $\bar{P} = \bar{x}$
pour SE $\bar{P} = 1$

Par exemple (Microtox - EI):

$$L_{tox} = 1 * \frac{0.49}{0.38}$$

3. Conversion des résultats de toxicité (C_{tox}) en unités toxiques (UT) et expression des résultats en fonction du poids sec de sédiments (UT_{sec}):

No. éch.	Eau interstitielle						
	Microtox® CI50			Thamnotox CL50			
	%v/v	U _{Thum}	U _{Tsec}	%v/v	U _{Thum}	U _{Tsec}	
Série A	4-6	> 100	1	0.3 (ND)	13,89	7,20	1,31

P = somme des composante (i.e., x, y et/ou z) qui se retrouvent dans la phase sédimentaire utilisée pour réaliser le bioessai. Dans le cas de l'eau interstitielle, p = x (voir valeur de x à l'étape 1 décrite dans ce tableau).

$$UT_{hum} = \frac{C_{max} \times D}{C_{tox}}$$

$$UT_{sec} = UT_{hum} \times \frac{p}{z}$$

e.g., Thamnotox:

$$UT_{hum} = \frac{100\%v/v \times 1}{14\%v/v}$$

$$UT_{sec} = 7,2 \times \frac{0,12}{0,66}$$

4. Détermination du facteur d'accroissement de la toxicité (FAC), ou ratio entre la toxicité mesurée (en UT_{sec}) et la toxicité minimale observable (L_{tox} – calculée à l'étape 2 ci-dessus) :

No. éch.	EI			SE		
	Thamnotox	Hydre	Microtox®	<i>C. tentans</i>	<i>H. azteca</i>	
Série A	4-6	1,03	0,40	0,81	138,0	136,7

$$FAC = \frac{UT_{sec}}{L_{tox}}$$

e.g., Thamnotox: FAC = 1,31/1,29

5. Calcul de la moyenne cumulée de la toxicité phasique (CAPT), à partir de la moyenne pondérée de la toxicité phasique⁴, du facteur de sensibilité⁵ défini pour chacune des phases sédimentaires, et du facteur de redondance (r)⁶ des phases utilisées dans l'évaluation toxicologique :

No. Éch.	EI	SE	CAPT	n
Série A	4-6	0,75	137,4	2

$$CAPT = \frac{(a \frac{\sum FAC(EI)}{N(EI)} + b \frac{\sum FAC(SH)}{N(SH)} + c \frac{\sum FAC(EO)}{N(EO)} + d \frac{\sum FAC(SE)}{N(SE)})}{r}$$

$$= \frac{(1 [2,2/3] + 1 [274/2])}{1,3}$$

1,3

⁴ $\sum FAC/N$, ou FAC est calculé à l'étape 4, et N correspond au nombre de bioessais réalisés avec la phase sédimentaire d'intérêt.

⁵ Par défaut, toutes les phases sont attribuées un facteur de sensibilité de 1, à l'exception de l'extrait organique (EO) qui a un facteur de 0,1.

⁶ Deux phases sédimentaires sont considérées redondantes si elles sont constituées de compartiments sédimentaires identiques. C'est le cas pour l'extrait organique et le sédiment entier, qui comprennent tous les deux les compartiments x, y et z. On leur attribue chacun une valeur r = 1. La phase EI (constituée de la composante x) prend une valeur de r = 0,33, alors que la phase SH (qui est composé de x et y) prend la valeur de 0,66. Dans le cas de l'échantillon 4-6 illustré ici, ou les phases EI et SH ont été testées, r=1,33.

n : nombre de phases sédimentaires ayant révélé de la toxicité

6. Calcul des indices SED-TOX, à partir de la moyenne cumulée de la toxicité phasique (CAPT, voir étape 5) et du nombre de phases sédimentaires ayant révélé de la toxicité (n)

Sites	No. Éch.	Toximesure	Score SED-TOX
Série A	4-6	184,23	2,27

$$Toximesure = 1 + (n \times CAPT)$$

$$SED-TOX = \log_{10} [1 + n(CAPT)]$$

**Annexe 4 – Evaluation of an SOS-Chromotest-based Approach
for the Isolation and Detection of Sediment-associated
Genotoxins (Bombardier et al., 2001)**

Annexe 5 – Composition chimique en contaminants organiques dans les sédiments à l'étude

Paramètres	Baie des Anglais *			SRC **	
	BA-1	BA-2	BA-3	HS-2	HS-3
HAP ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ sec}$)					
Naphtalène	0,193	0,018	0,004	ND	9,000 \pm 0,700
Acénaphtylène	0,008	0,001	-	ND	0,300 \pm 0,100
Acénaphthène	0,492	0,044	0,005	ND	4,500 \pm 1,500
Fluorène	0,480	0,045	0,005	ND	13,300 \pm 3,100
Phénanthrène	3,850	0,390	0,043	ND	85,000 \pm 20,000
Anthracène	0,024	0,009	0,005	ND	13,400 \pm 0,500
Fluoranthène	6,850	0,722	0,093	ND	60,000 \pm 9,000
Pyrène	5,350	0,563	0,076	ND	39,000 \pm 9,000
Benzo(<i>a</i>)anthracène	3,650	0,343	0,066	ND	14,600 \pm 2,000
Chrysène	6,090	0,051	0,002	ND	14,100 \pm 2,000
Benzo(<i>b</i>)fluoranthène	4,270	0,313	0,042	ND	7,700 \pm 1,200
Benzo(<i>k</i>)fluoranthène	2,090	0,005	0,002	ND	2,800 \pm 2,000
Benzo(<i>e</i>)pyrène	2,350	0,063	0,035	ND	ND
Benzo(<i>a</i>)pyrène	3,710	0,008	0,001	ND	7,400 \pm 3,600
Indéno(1,2,3- <i>cd</i>)pyrène	1,340	0,108	0,018	ND	5,400 \pm 1,300
Dibenz(<i>a,c</i>)anthracène	0,268	0,020	-	ND	ND
Dibenz(<i>a,h</i>)anthracène	0,056	0,004	-	ND	1,300 \pm 0,500
Benzo(<i>ghi</i>)pérylène	0,031	0,002	0,019	ND	5,000 \pm 2,000
Congénères de BPC ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ sec}$)					
77	7,000	0,740	0,090	ND	ND
101	ND	ND	ND	5,420 \pm 3,400	ND
105	43,000	3,030	0,280	ND	ND
118	31,000	4,460	0,410	ND	ND
126	0,230	0,020	0,002	ND	ND
138	ND	ND	ND	6,920 \pm 5,200	ND
151	ND	ND	ND	1,370 \pm 0,070	ND
153	ND	ND	ND	6,150 \pm 0,670	ND
169	0,003	0,001	0,000	ND	ND
170	ND	ND	ND	1,070 \pm 0,150	ND
180	ND	ND	ND	3,700 \pm 0,330	ND
194	ND	ND	ND	0,610 \pm 0,070	ND
196	ND	ND	ND	1,130 \pm 0,120	ND
199	ND	ND	ND	1,390 \pm 0,090	ND
209	ND	ND	ND	0,900 \pm 0,140	ND

Paramètres	Baie des Anglais *			SRC **	
	BA-1	BA-2	BA-3	HS-2	HS-3
PCDD, PCDF (pg.g⁻¹ sec)					
2,3,7,8-T ₄ CDD	< 0,03	0,06	< 0,03	ND	ND
T ₄ CDD	4,10	1,40	0,80	ND	ND
1,2,3,7,8-P ₅ CDD	0,34	0,14	0,10	ND	ND
P ₅ CDD	3,90	1,30	1,00	ND	ND
1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD	0,36	0,14	0,10	ND	ND
1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD	0,78	0,70	0,30	ND	ND
1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	0,69	0,57	0,30	ND	ND
H ₆ CDD	7,70	6,50	3,20	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	15,00	8,60	5,10	ND	ND
H ₇ CDD	28,00	17,00	10,00	ND	ND
OCDD	76,00	45,00	27,00	ND	ND
2,3,7,8-T ₄ CDF	200,00	11,60	1,60	ND	ND
T ₄ CDF	710,00	46,00	8,00	ND	ND
1,2,3,7,8-P ₅ CDF	28,00	2,10	0,30	ND	ND
P ₅ CDF	240,00	17,00	3,00	ND	ND
1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF	20,00	1,70	0,50	ND	ND
1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF	2,80	0,50	0,20	ND	ND
1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF	0,50	< 0,03	< 0,03	ND	ND
2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF	1,80	0,40	0,20	ND	ND
H ₆ CDF	40,00	6,50	3,20	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF	7,90	4,90	3,40	ND	ND
1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF	0,60	0,20	0,10	ND	ND
H ₇ CDF	14,00	9,00	6,00	ND	ND
OCDF	14,00	6,00	3,00	ND	ND

* Données fournies par Nagler *et al.* (1998).

** Données fournies par le Conseil national de recherches Canada (CNRC).

- = non détecté; ND = non disponible.

**Annexe 6 – The SED-TOX Index: Toxicity-directed
Management Tool to Assess and Rank Sediments
based on their Hazard – Concept and Application
(Bombardier et Bermingham, 1999).**

**Annexe 7 - Comparative Study of the Sediment-Toxicity Index,
Benthic Community Metrics and Contaminant
Concentrations (Bombardier et Blaise, 2000).**