No d'ordre : 2009-ISAL-0034
Année 2009

THESE

Evaluation des risques écotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau :

Application à une ville française et à une ville haïtienne

Présentée devant

L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON

Pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR

Ecole doctorale : **Chimie de Lyon (Chimie, Procédés et Environnement)**
Spécialité : **Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain**

Par

Ruth ANGERVILLE

Soutenue le 18 mai 2009 devant la Commission d'examen

Jury composé de :

Gérard BLAKE	Professeur (Université de Savoie, Chambéry)	Rapporteur
Jacques BOURGOIS	Professeur (EMSE, Saint-Etienne)	Rapporteur
Rémy GOURDON	Professeur (LGCIE, INSA de Lyon)	Président
Yves PERRODIN	Directeur de Recherche (LSE - ENTPE)	Directeur de thèse
Evens EMMANUEL	Professeur, HDR (LAQUE - UniQ, Haïti)	Co-Directeur de thèse
Christine BAZIN	Chef de Projet (POLDEN, INSAVALOR)	Examinateur
Pascal BREIL	Chargé de Recherche (CEMAGREF de Lyon)	Examinateur

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire des Sciences de l'Environnement de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat (Vaulx-en-Velin) et au Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement de l'Université Quisqueya (Port-au-Prince)

INSA Direction de la Recherche - Ecoles Doctorales – Quadriennal 2007-2010

SIGLE	ECOLE DOCTORALE	NOM ET COORDONNEES DU RESPONSABLE
CHIMIE	**CHIMIE DE LYON** http://sakura.cpe.fr/ED206 M. Jean Marc LANCELIN Insa : R. GOURDON	M. Jean Marc LANCELIN Université Claude Bernard Lyon 1 Bât CPE 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43 13 95 Fax : lancelin@hikari.cpe.fr
E.E.A.	**ELECTRONIQUE, ELECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE** http://www.insa-lyon.fr/eea M. Alain NICOLAS Insa : D. BARBIER ede2a@insa-lyon.fr Secrétariat : M. LABOUNE AM. 64.43 – Fax : 64.54	M. Alain NICOLAS Ecole Centrale de Lyon Bâtiment H9 36 avenue Guy de Collongue 69134 ECULLY Tél : 04.72.18 60 97 Fax : 04 78 43 37 17 eea@ec-lyon.fr Secrétariat : M.C. HAVGOUDOUKIAN
E2M2	**EVOLUTION, ECOSYSTEME, MICROBIOLOGIE, MODELISATION** http://biomserv.univ-lyon1.fr/E2M2 M. Jean-Pierre FLANDROIS Insa : H. CHARLES	M. Jean-Pierre FLANDROIS CNRS UMR 5558 Université Claude Bernard Lyon 1 Bât G. Mendel 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cédex Tél : 04.26 23 59 50 Fax 04 26 23 59 49 06 07 53 89 13 e2m2@biomserv.univ-lyon1.fr
EDIIS	**INFORMATIQUE ET INFORMATION POUR LA SOCIETE** http://ediis.univ-lyon1.fr M. Alain MILLE Secrétariat : I. BUISSON	M. Alain MILLE Université Claude Bernard Lyon 1 LIRIS - EDIIS Bâtiment Nautibus 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72. 44 82 94 Fax 04 72 44 80 53 ediis@liris.cnrs.fr - alain.mille@liris.cnrs.fr
EDISS	**INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES-SANTE** Sec : Safia Boudjema M. Didier REVEL Insa : M. LAGARDE	M. Didier REVEL Hôpital Cardiologique de Lyon Bâtiment Central 28 Avenue Doyen Lépine 69500 BRON Tél : 04.72.68 49 09 Fax :04 72 35 49 16 Didier.revel@creatis.uni-lyon1.fr
Matériaux	**MATERIAUX DE LYON** M. Jean Marc PELLETIER Secrétariat : C. BERNAVON 83.85	M. Jean Marc PELLETIER INSA de Lyon MATEIS Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 VILLEURBANNE Cédex Tél : 04.72.43 83 18 Fax 04 72 43 85 28 Jean-marc.Pelletier@insa-lyon.fr
Math IF	**MATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE FONDAMENTALE** M. Pascal KOIRAN Insa : G. BAYADA	M.Pascal KOIRAN Ecole Normale Supérieure de Lyon 46 allée d'Italie 69364 LYON Cédex 07 Tél : 04.72.72 84 81 Fax : 04 72 72 89 69 Pascal.koiran@ens-lyon.fr Secrétariat : Fatine Latif - latif@math.univ-lyon1.fr
MEGA	**MECANIQUE, ENERGETIQUE, GENIE CIVIL, ACOUSTIQUE** M. Jean Louis GUYADER Secrétariat : M. LABOUNE PM : 71.70 – Fax : 87.12	M. Jean Louis GUYADER INSA de Lyon Laboratoire de Vibrations et Acoustique Bâtiment Antoine de Saint Exupéry 25 bis avenue Jean Capelle 69621 VILLEURBANNE Cedex Tél :04.72.18.71.70 Fax : 04 72 18 87 12 mega@lva.insa-lyon.fr
ScSo	**ScSo*** M. BRAVARD Jean Paul Insa : J.Y. TOUSSAINT	M. BRAVARD Jean Paul Université Lyon 2 86 rue Pasteur 69365 LYON Cedex 07 Tél : 04.78.69.72.76 Fax : 04.37.28.04.48 Jean-paul.bravard@univ-lyon2.fr

*ScSo : Histoire, Géographie, Aménagement, Urbanisme, Archéologie, Science politique, Sociologie, Anthropologie

A mes parents,

Assoneuse et Jean Julien

Et à mes frères et soeurs

Remerciements

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE) de l'ENTPE et au Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement (LAQUE) de l'Université Quisqueya (UniQ). La conduite de ces travaux m'a conduit à solliciter de nombreuses personnes et structures, qui m'ont apporté leur aide tant sur le plan administratif, scientifique que personnel, et que je tiens à remercier.

Je remercie, en premier lieu, Yves Perrodin (LSE) et Evens Emmanuel (LAQUE) pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire respectif ainsi que pour leur encadrement tout au cours de la réalisation de ce travail de thèse. Je tiens tout particulièrement à remercier Yves Perrodin pour avoir fait tout son possible pour faciliter mon intégration en France et au sein du LSE. J'associe à ces remerciements, Clotilde Boillot et Christine Bazin (POLDEN) pour m'avoir initié à la réalisation des bioessais écotoxicologiques.

Mes remerciements s'adressent également à Jacques Bourgois (EMSE, Saint-Etienne) et Gérard Blake (Université de Savoie, Chambéry) qui ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Merci également à Rémy Gourdon (LGCIE, INSA de Lyon) d'avoir accepté de présider mon jury de thèse, à Pascal Breil (CEMAGREF de Lyon) et à Christine Bazin (POLDEN, INSAVALOR) d'avoir accepté de participer au jury.

Je ne saurais oublier de remercier le bureau international et le bureau de la région Caraïbes de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour la bourse de formation à la recherche qui m'a été octroyée. Merci pour votre contribution à la formation des jeunes et jeunes-cadres des pays du Sud et notamment ceux d'Haïti.

Je remercie l'UniQ à travers son Rectorat et le Décanat de la Faculté des Sciences de Génie et d'Architecture (FSGA), mon université d'attache en Haïti, tout au long de mon cursus de formation professionnelle (Licence, Master et Doctorat).

Je tiens également à remercier tout le personnel de la Centrale Autonome Métropolitaine d'Eau Potable (CAMEP), mon institution d'attache en Haïti qui, par l'organe de ses directions successives, m'a encouragé dans mon processus de perfectionnement professionnel. Que tout le personnel de cette institution et particulièrement mes collègues de la Direction de la Planification et du Service Etudes soient remerciés. Chacun a su contribuer, à sa façon, dans la conduite de mes travaux de recherche.

Je ne saurais oublier des professionnels du Secteur de l'Eau, de l'Assainissement et de l'Environnement en Haïti incluant : l'Etat haïtien (dont le Service de Génie Urbain du Ministère des Travaux Publics, Transports et Communication (MTPTC) ; la Cellule Eau Potable et Assainissement du MTPTC ; le MDE ; le Centre National de l'Information Géo-Spatiale (CNIGS) ; …), le Secteur Privé (la General Engineering Services (GNS) ; BETA Ingénieur-Conseil ; Eyrolles Calixte Ingénieur-Conseil ; LGL S. A.), des Consultants internationaux (dont Juliaan Plancke), Geneviève Javaloyes et Guillaume

REMERCIEMENTS

Josse de l'Agence Française de Développement) ; …. Une liste exhaustive serait bien trop longue à dresser, mais chacun, à un moment ou à un autre, est intervenu pour m'aider dans la recherche d'informations, ou encore à trouver des alternatives ou des pistes de solution face à une situation donnée. Je vous remercie pour votre support.

Un très grand merci à chaque membre (anciens et actuels) de l'équipe du LSE pour avoir apporté une touche spéciale à chacun de mes séjours à Lyon de telle sorte qu'ils restent des moments inoubliables. Je fais référence :

- aux enseignants-chercheurs : Rafaël (notre co-bureau), Cécile, Laurence, Claude, Sylvie, Jean-Philippe, Thierry, Alain, Bernard, Jean-Claude, Marc (le grand) ;
- l'équipe administrative et technique du LSE : notre super Alicia, Thérèse, Myriam, Marc (Marco) et Isabelle ;
- aux anciens doctorants : Hélène L., Laurent L., Manuelle, David, Clotilde, Andriy, Yanick, Nicolas, Xavier, Julien, ma co-bureau Anne-Laure (j'étais chanceuse de t'avoir comme co-bureau) ;
- aux doctorants actuels : mon co-bureau Benjamin (courage jusqu'à la ligne d'arrivée qui n'est plus très loin maintenant), Muriel (Mumu S., ma complice vaudaise et membre du trio infernal ; merci pour tout et particulièrement pour le complot du mois de janvier 2009), Emilie, Hélène D., Houssemmedine, Urbain et Anne-Sophie (fondatrice du trio infernal ; on doit maintenir notre trio en activité). Je vous souhaite une très bonne continuation dans vos travaux de recherche.

Je ne saurais oublier Martine (ancienne technicienne du LSE), Gilles, Alex, Arnault et, bien entendu, Muriel (Mumu P.) et Laurent T. (Le Laulau) que j'ai eu beaucoup de plaisir à rencontrer et côtoyer.

Mes remerciements s'adressent également à Mathieu Hervé pour sa contribution à ce travail, notamment en ce qui concerne les réflexions portant sur la phase caractérisation de l'exposition pour la Rivière Chaudanne.

Je veux remercier tout particulièrement Eric Vindimian pour sa grande disponibilité à répondre mes nombreuses questions en rapport à l'écotoxicologie et à REGTOX. Je ne saurais oublier Cécile Delolme que je remercie pour m'avoir initié à l'utilisation du modèle PHREEQC et pour sa grande disponibilité par rapport aux nombreuses simulations qu'il a fallu réaliser.

Mes remerciements s'adressent également aux personnes suivantes qui m'ont apporté leur aide et leur soutien au cours des campagnes de prélèvements et des manips :

En France :

- Le CEMAGREF de Lyon : Pascal Breil, Philippe Namours (ancien CEMAGREF), Michel Lafont ;
- Fabien Thollet et Yvan Béranger de l'INSA de Lyon et de l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU) ;
- L'équipe technique du LSE ;

- L'Equipe de POLDEN et en particulier Christine, Karim et Carole. Christine, tu as su me transmettre les bases et toute la rigueur qui s'impose (surtout sur la paillasse) dans cette discipline scientifique qu'est l'écotoxicologie. Je t'en remercie.

En Haïti :

- A la CAMEP et notamment à Joane H. Poisson et à la Planification. Je formule des remerciements spéciaux à l'endroit de Pierre Gerton René, ancien Directeur de la CAMEP, pour ces années de franches collaborations, pour ta confiance, ton soutien inestimable et ta contribution dans mes recherches de données ;
- A Frantz Pierre-Charles du Service Logistique de l'UniQ ainsi que l'ensemble du personnel rattaché à ce service. Ils ont toujours su m'apporter une aide précieuse, chacun dans son domaine respectif, à chaque fois que j'ai eu besoin de leurs interventions ;
- Merci à toi, Nesly Gélin, car sans ton aide précieux, la campagne de prélèvement en Haïti (septembre 2007) n'aurait jamais pu être une réalité. Tu as toujours été présent et disponible à chaque fois que le besoin se faisait sentir ;
- A « la grande équipe d'Haïti » qui a joué un rôle déterminant en ce qui concerne la réalisation des essais écotoxicologiques, au sein de l'Unité d'Ecotoxicologie Tropicale (UnET) du LAQUE : M.C. Joëlle, Humberto, Edwine, Olatunji et Elmyre. Le stress était à son comble lorsque j'espérais un événement pluvieux durant mon séjour en Haïti en 2007 et vous avez toujours été là avant et surtout après cette pluie, pour tout ce qu'il y avait à faire dans un si court délai.

Je tiens également à remercier tout particulièrement deux personnes qui ont, d'une certaine façon, joué un rôle d'« ange-gardien » pour moi tout au long de ces années : Hervé Lamothe en Haïti et Marco au LSE en France. Vous avez toujours été présents pour m'aider à trouver une alternative à chaque fois qu'une situation difficile se présentait. Un grand merci pour tout.

Je ne saurais oublier Paul et Maguy Vermande et leur famille (merci pour votre accueil et pour toute l'affection que vous portez à Haïti), le Collectif Haïti de France, le Réseau Rhône-Alpes pour Haïti, Réginal Félix, Miguel (INSA), Aurélie (INSA), Joaneson, Francette Pignard, Gilles Sartout. Je vous remercie pour votre support. J'en profite pour souhaiter une bonne continuation aux autres doctorants de l'UniQ.

Merci à ma chère et grande famille (parents et grands-parents, sœurs, frères), mon parrain, ma marraine, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines, et mes neveux et nièces qui n'ont cessé de me manifester leur affection et leur soutien tout au long de ces années et séjours alternés entre Haïti et la France. Mes remerciements s'adressent également à de proches et véritables amis (la liste serait assez longue !), en Haïti et en France, pour toutes leurs marques d'attention.

Ma vie était partagée entre deux pays durant ces années de travaux de recherche : Haïti ma terre natale et la France mon pays d'accueil. Ces séjours alternés ont été très riches en termes d'acquisition de connaissances mais également en termes relationnels, de découverte et d'appréciation mutuelle. Je tiens par conséquent à remercier toutes les personnes que j'ai pu rencontrer ou côtoyer au cours de cette aventure.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES 1

LISTE DES PUBLICATIONS 15

LISTE DES ABREVIATIONS 16

LISTE DES TABLEAUX 19

LISTE DES FIGURES 24

INTRODUCTION 27

I. Contexte général 27
II. Les Objectifs de la thèse 28
III. Structuration du document 29

PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 32

I. Les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) 34
I.1. Terminologie et Origine des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) 34
I.2. Caractéristiques des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) 35
I.2.1. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des RUTP 35
I.2.11. Paramètres de base 38
I.2.111. Le pH 38
I.2.112. Matières En Suspension 38
I.2.113. Matières oxydables 40
I.2.114. Nutriments 40
I.2.12. Micropolluants minéraux 41
I.2.13. Micropolluants organiques 43
I.2.14. Micro-organismes 45
I.2.2. Répartition de la pollution des RUTP : phase dissoute et phase particulaire - granulométrie 45
I.2.3. Le concept de « premier flot » 45
I.2.4. Synthèse sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des RUTP 46
I.2.5. Spéciation en milieux aqueux 48
I.2.6. Caractéristiques écotoxicologiques des RUTP 48
I.3. Contribution des RUTP aux problèmes d'impact sur l'écosystème aquatique 50
I.3.1. Notion d'impact et typologie 50
I.3.2. Impact des RUTP sur les milieux aquatiques 51
I.4. Etat des lieux en matière de gestion des RUTP 52
I.4.1. Les approches et techniques utilisées dans les Pays Développés 52
I.4.11. Contexte international 52

I.4.12. Approches et techniques utilisées 53
I.4.2. Les approches et techniques utilisées dans les Pays en Développement (PED) 54
I.4.21. Contexte international 54
I.4.22. Le cas d'Haïti 55
I.4.221. Présentation d'Haïti et de Port-au-Prince 55
I.4.222. Gestion des RUTP à Port-au-Prince 56
I.5. Aspects réglementaires en rapport à la gestion des RUTP 58
I.5.1. Contexte International et des Pays Développés 58
I.5.2. Contexte des Pays en Développement - Le cas de Haïti 59
II. L'Evaluation des Risques : Environnementaux ; Ecologiques ; Ecotoxicologiques (EDREcotox) 61
II.1. Intoduction et terminologie 61
II.2. Les méthodologies d'évaluation des risques ecologiques ou ecotoxicologiques existantes 63
II.2.1. Introduction et terminologie 63
II.2.2. Présentation des méthodologies existantes 63
II.2.3. Contexte d'élaboration des méthodologies existantes 64
II.2.4. Principales phases d'une méthodologie d'évaluation des risques écologiques (EDRE) 66
II.2.41. Formulation du problème 67
II.2.42. Phase d'analyse 68
II.2.421. La caractérisation de l'exposition 69
II.2.422. La caractérisation des effets 69
II.2.43. Caractérisation du risque 72
II.3. Les techniques utilisées dans la phase d'analyse 74
II.3.1. Caractérisation de l'exposition et outils existants 74
II.3.11. Observation 74
II.3.12. Expérimentation 74
II.3.13. Modélisation 74
II.3.2. Caractérisation des effets écotoxicologiques et approches utilisées 75
II.3.21. Généralités sur la caractérisation des effets écotoxicologiques 75
II.3.211. Les approches « substances » 76
II.3.212. L'approche « matrice » 77
II.3.22. Approches utilisées pour la caractérisation des effets écotoxicologiques 77
II.3.221. L'approche « substances (seules) » 78
II.3.222. L'approche « substances avec effets combinés » 79
II.3.223. L'approche « batterie de bioessais mono-spécifiques » 88
II.3.224. L'approche « bioessais pluri-spécifiques » 91
II.3.23. Conclusion sur la caractérisation des effets écotoxicologiques 92
II.4. Types d'essais utilisés pour la caractérisation des effets écotoxicologiques pour les milieux aquatiques 94
II.4.1. Bioessais mono-spécifiques 94
II.4.11. Bioessais normalisés et organismes tests en milieu aquatique 94
II.4.12. Bioessais non-normalisés et organismes tests en milieu aquatique 94
II.4.13. Exemples de bioessais mono-spécifiques utilisés en milieux aquatiques 96

II.4.2. Bioessais pluri-spécifiques existants et quelques exemples 96
II.4.3. Adaptation de protocole 97

PARTIE B : MATERIELS ET METHODES..... 99

I. Ecotoxicité et effets combinés de polluants présents dans les RUTP 101
I.1. Polluants retenus et substances étudiées 101
I.1.1. Quelques caractéristiques communes aux éléments métalliques 102
I.1.2. Cadmium (Cd) 102
I.1.3. Cuivre (Cu) 103
I.1.4. Plomb (Pb) 104
I.1.5. Zinc (Zn) 105
I.1.6. Ammonium (NH_4) 106
I.1.7. Informations techniques sur les substances étudiées 107
I.1.8. Données écotoxicologiques sur les substances étudiées 107
I.2. Organismes tests et bioessais retenus 108
I.2.1. Le crustacé *Daphnia magna Strauss* (Dm) 109
I.2.2. L'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) 111
I.3. Protocoles de préparation des solutions d'essai et de réalisation des essais 113
I.3.1. Solutions d'essai et types de mélanges étudiés 113
I.3.2. Protocole de préparation des mélanges binaires 114
I.3.3. Protocole de mise en œuvre des essais 116
I.3.31. Mise en œuvre du bioessai Dm 24 h 116
I.3.32. Mise en œuvre du bioessai Ps 72 h 117
I.4. Traitement des résultats 119
I.5. Spéciation des elements chimiques dans les solutions synthétiques 120
II. Proposition d'une méthodologie d'EDREcotox liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau - Approche *a priori* 123
II.1. Formulation du problème 123
II.1.1. Contexte et scénario d'étude 124
II.1.2. Paramètre d'évaluation et modèle conceptuel 125
II.1.21. Stresseurs, traceurs de risque et Source d'émission 125
II.1.22. Voie de transfert - Evaluation de l'exposition 126
II.1.23. Ecosystème à protéger 127
II.1.24. Proposition d'un modèle conceptuel 128
II.1.3. Plan d'analyse 128
II.2. Phase d'analyse 130
II.2.1. Choix réalisés 130
II.2.11. Campagne de prélèvements 130
II.2.111. Critères de choix des points de prélèvement 131
II.2.112. Préparation des échantillons 132
II.2.12. Campagne d'analyses 133
II.2.2. Caractérisation de l'exposition 134
II.2.21. Analyses physico-chimiques 134

II.2.22. Approche retenue pour l'estimation des PEC 135
II.2.221. Polluants traceurs de risque 135
II.2.222. Estimation des valeurs de PEC 135
II.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques 136
II.2.31. Approches retenues 136
II.2.311. Approche « substances seules » 137
II.2.312. Approche « substances avec effets combinés » 137
II.2.313. Approche « matrice » au moyen d'essais écotoxicologiques 137
II.2.32. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en oeuvre 138
II.2.321. Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (Dm) 138
II.2.322. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf) 139
II.2.323. Inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) 141
II.2.324. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* (Bc) en 48 h 143
II.2.325. Inhibition de la croissance de la population de *Ceriodaphnia dubia* (Cdu) en 7 jours 145
II.2.326. Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *Daphnia magna Strauss* (Dm) en 21 jours 147
II.2.33. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 148
II.2.331. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0) 148
II.2.332. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments (*Heterocypris incongruens* - Hi) 149
II.2.34. Synthèse de l'approche « matrice » proposée pour caractériser les effets d'un échantillon de RUTP 153
II.2.35. Traitement des résultats 155
II.2.36. Détermination des valeurs de PNEC 155
II.2.361. Valeurs de PNEC déterminées selon l'approche « substances » 155
II.2.362. Valeurs de PNEC déterminées selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 155
II.3. Caractérisation du risque 156
II.3.1. Approche retenue pour la caractérisation du risque 156
II.3.2. Estimation de l'indice de risque suivant les trois approches de caractérisation des effets écotoxicologiques utilisées 156
II.3.211. Indice de risque estimé selon l'approche « substances » 156
II.3.212. Indice de risque estimé selon l'approche « substances avec effets combinés » 156
II.3.213. Indice de risque estimé selon l'approche « matrice » au moyen de la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 157
III. Caractérisation d'un échantillon de rutp prélevé en France - DO du Pont de la Barge se déversant dans la riviére Chaudanne (Commune de Grézieu-La-Varenne) 159
III.1. Introduction 159
III.2. Présentation du site de prélèvement (France) 159
III.2.1. Présentation de la zone d'étude et de son Bassin-Versant 159
III.3. Campagne de prélèvements 161
III.3.11. Point de prélèvement 161
III.3.12. Prélèvement, conditionnement et préparation de l'échantillon de RUTP 162
III.4. Caractérisation de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 162

III.4.1. Caractérisation physico-chimique 162
III.4.2. Analyse granulométrique 170
III.5. Caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 170
III.5.1. Approche retenue pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du DO 170
III.5.2. Batterie de bioessais mono-spécifiques retenus pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 171
III.5.21. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 171
III.5.211. Inhibition de la mobilité de *D. magna* (Dm) 171
III.5.212. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) 171
III.5.213. Inhibition de la croissance de l'algue *P. subcapitata* (Ps) 172
III.5.214. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h) 172
III.5.215. Inhibition de la croissance de la population de *C. dubia* (Cdu) en 7 j 172
III.5.216. Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *D. magna* (Dm) en 21 j 172
III.5.22. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 173
III.5.221. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0) 173
III.5.222. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi) 173
III.5.3. Synthèse de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge 173
IV. Caractérisation des échantillons de rutp prélevés en Haïti - Canal Bois-de-Chêne (Port-au-Prince) 177
IV.1. Introduction 177
IV.2. Présentation du site de prélèvement (en Haïti) 177
IV.2.1. Présentation de la zone d'étude 177
IV.3. Campagne de prélèvements 180
IV.3.11. Points de prélèvement 180
IV.3.12. Prélèvement, conditionnement et préparation de l'échantillon de RUTP 181
IV.4. Caractérisation des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 182
IV.4.1. Caractérisation physico-chimique 182
IV.4.11. Paramètres globaux 183
IV.4.12. Matières En Suspension (MES) 184
IV.4.13. Métaux : 184
IV.4.14. Matière Sèche - Perte au feu 184
IV.4.2. Analyse granulométrique 184
IV.5. Caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne 185
IV.5.1. Approche retenue pour caractériser les effets des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne185
IV.5.2. Batterie simplifiée de bioessais retenue et mise en œuvre en Haïti afin de caractériser les effets des échantillons du Canal Bois-de-Chêne 186
IV.5.21. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 186
IV.5.211. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) 186
IV.5.212. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h) 186
IV.5.22. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 186

IV.5.221. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0) 186
IV.5.222. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi) 187
IV.5.3. Batterie simplifiée de bioessais retenue et mise en œuvre en France afin de caractériser les effets des échantillons du Canal Bois-de-Chêne 187
IV.5.31. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 187
IV.5.311. Inhibition de la mobilité de *D. magna* (Dm) 187
IV.5.312. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) 188
IV.5.313. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h) 188
IV.5.32. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre 188
IV.5.321. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0) 188
IV.5.322. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi) 188
IV.5.4. Synthèse de la batterie simplifiée de bioessais mono-spécifiques sélectionnés pour la caractérisation des effets des échantillons prélevés en Haïti 189

V. Proposition d'une methodologie d'EDREcotox pour le cours d'eau du scénario français au moyen d'essais en laboratoire - *Approche a posteriori* 192

V.1. Introduction 192
V.2. Présentation du problème 192
V.3. Principales caractéristiques de la rivière choisie 192
V.4. Données pluviométrique et de débit sur une période encadrant la date de la campagne de prélèvements 193
V.5. Campagne de prélèvements - Rivière Chaudanne 194
V.5.1. Points de prélèvement 195
V.5.2. Horizons étudiées 195
V.5.3. Prélèvement et conditionnement des échantillons ramenés en laboratoire 196
V.5.31. Prélèvement des échantillons 196
V.5.311. Eau de Surface (ES) 196
V.5.312. Zone benthique (B) 197
V.5.313. Zone hyporhéique (H) 198
V.5.32. Conditionnement des échantillons ramenés en laboratoire 199
V.5.321. Eau de Surface (ES) 199
V.5.322. Zone benthique (B) 199
V.5.323. Zone hyporhéique (H) 199
V.5.4. Préparation des échantillons 200
V.6. Caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'etude 200
V.6.1. Caractérisation physico-chimique des échantillons de la rivière Chaudanne 200
V.6.11. Analyses physico-chimiques 200
V.6.12. Granulométrie 202
V.7. Caractérisation écotoxicologique des échantillons de la Riviere Chaudanne 203
V.7.1. Constitution de la batterie « simplifiée » de bioessais mono-spécifiques utilisée 203
V.7.2. Batterie « simplifiée » de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre sur les échantillons de la rivière Chaudanne 203
V.7.21. Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (Dm) 203

V.7.22. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf) 203
V.7.221. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur les échantillons d'eau de surface (ES) 203
V.7.222. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique 204
V.7.223. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur la fraction « Sédiment » des échantillons des zones benthique et hyporhéique 205
V.7.23. Rotoxkit™ F - Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h) 206
V.7.24. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi) 206
V.7.241. Réalisation de l'essai ostracode avec gamme de dilutions - Mise au point et mise en œuvre du protocole 207
V.7.242. Suivi de l'oxygène dissous et de la température pour l'essai ostracode - Mise au point et mise en œuvre du protocole 208
V.7.3. Synthèse de l'approche proposée pour la caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne 209
V.8. approche methodologique proposée pour l'EDREcotox pour la rivière Chaudanne dans le cadre d'une démarche *a posteriori* 211

PARTIE C : RESULTATS 212

I. Ecotoxicité et effets combinés de polluants présents dans les RUTP 214
I.1. Ecotoxicité des substances étudiées 216
I.1.1. Ecotoxicité des substances vis-à-vis de *D. magna* 216
I.1.2. Ecotoxicité des substances vis-à-vis de P. subcapitata 218
I.1.3. Bilan des résultats de l'étude de l'écotoxicité des substances vis-à-vis des deux organismes tests220
I.2. Ecotoxicité des mélanges binaires de substances étudiés 222
I.2.1. Ecotoxicité des mélanges binaires vis-à-vis de *D. magna* 222
I.2.11. Mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna* 222
I.2.12. Mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna* 227
I.2.2. Ecotoxicité des mélanges binaires de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata* 229
I.2.3. Bilan des résultats sur l'étude de l'écotoxicité des mélanges binaires étudiés vis-à-vis des deux organismes tests 233
I.3. Etude des effets combinés des mélanges binaires réalisés 234
I.3.1. Effets combinés des mélanges binaires vis-à-vis de *D. magna* 234
I.3.11. TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna* 234
I.3.12. TI du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna* 236
I.3.2. Effets combinés des mélanges binaires vis-à-vis de *P. subcapitata* 237
I.3.21. TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata* 237
I.3.3. Bilan des résultats de l'étude des effets combinés des mélanges binaires 239
I.4. Spéciation 240
I.4.1. Cas des substances 240
I.4.11. Résultats de la spéciation des solutions testées vis-à-vis de *D. magna* 240
I.4.12. Résultats de la spéciation des solutions testées vis-à-vis de *P. subcapitata* 242
I.4.2. Cas des mélanges binaires 243
I.4.21. Résultats de la spéciation des mélanges binaires testés vis-à-vis de *D. magna* 243
I.4.22. Résultats de la spéciation des mélanges binaires testés vis-à-vis de *P. subcapitata* 247

I.5. Contribution des résultats des calculs de spéciation à la compréhension des effets toxiques observés 250
I.5.1. Cas des substances 250
I.5.2. Cas des mélanges 251
I.6. Synthèse générale sur l'etude de l'écotoxicité et des effets combinés des polluants étudiés 254
II. Caractéristiques de l'echantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Grézieu-La-Varenne, France) 257
II.1. Caractéristiques physico-chimiques de l'echantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 258
II.1.1. Présentation des résultats des analyses physico-chimiques 258
II.1.11. Mesures réalisées par le CEMAGREF de Lyon sur l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 258
II.1.12. Résultats de la caractérisation physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP 258
II.1.13. Caractéristiques des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 260
II.1.14. Caractéristiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge préalablement congelé puis soumis à des essais écotoxicologiques 261
II.1.2. Analyse des résultats physico-chimiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 261
II.1.211. Paramètres globaux 261
II.1.212. Nutriments 264
II.1.213. Matières oxydables 265
II.1.214. Les pesticides 266
II.1.215. Micropolluants organiques 266
II.1.216. Micropolluants minéraux 267
II.1.217. Matière Sèche et Perte au feu 268
II.1.3. Granulométrie des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 268
II.2. Caractéristiques écotoxicologiques de l'echantillon de RUTP prélevé en France 269
II.2.1. Ecotoxicité de la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 270
II.2.2. Ecotoxicité des « particules » contenues dans l'échantillon de RUTP prélevé en France 271
II.2.21. Ecotoxicité des « particules » de l'échantillon de RUTP pélevé en France vis-à-vis de *V. fischeri* 271
II.2.22. Ecotoxicité des « particules » de l'échantillon de RUTP pélevé en France vis-à-vis de *H. incongruens* 271
II.2.3. Ecotoxicité d'une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 272
II.2.4. Synthèse sur l'écotoxicité de l'échantillon de RUTP prélevé en France 272
III. Caractéristiques des echantillons de RUTP prelevés dans le Canal Bois-de-Chêne (Port-au-Prince, Haïti) 275
III.1. Caractéristiques physico-chimiques des echantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 276
III.1.1. Présentation des résultats des analyses physico-chimiques 276
III.1.11. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons « frais » (brut et filtré) : 276
III.1.12. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons préalablement congelés 276
III.1.13. Caractéristiques des particules des échantillons de RUTP prélevés en Haïti 277
III.1.2. Analyse des résultats des résultats physico-chimiques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 278
III.1.211. Paramètres globaux 278

III.1.212. Nutriments 280
III.1.213. Matières oxydables 281
III.1.214. Micropolluants minéraux 281
III.1.215. Matière Sèche et Perte au feu 282
III.1.3. Granulométrie des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 283
III.2. Caractéristiques écotoxicologiques des echantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 284
III.2.1. Essais écotoxicologiques réalisés en Haïti - Echantillons « frais » 284
III.2.2. Essais écotoxicologiques réalisés en France - Echantillons « décongelés » 285
III.2.21. Ecotoxicité de la fraction « eau » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti 285
III.2.22. Ecotoxicité des « particules » contenues dans les échantillons de RUTP prélevés en Haïti 286
III.2.221. Ecotoxicité des « particules » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti vis-à-vis de *V. fischeri* 286
III.2.222. Ecotoxicité des « particules » des échantillons de RUTP pélevés en Haïti vis-à-vis de *H. incongruens* 287
III.2.23. Synthèse sur l'écotoxicité des échantillons de RUTP prélevés en Haïti 288
IV. Application sur la base d'une approche *a priori* de la méthodologie d'EDREcotox proposée à un scénario français 290
IV.1. Formulation du Problème 290
IV.1.1. Introduction et contexte général du scénario etudié 290
IV.1.2. Paramètres d'évaluation et modèle conceptuel 291
IV.1.21. Stresseurs et source d'émission 291
IV.1.22. Ecosystème à protéger et organismes cibles 291
IV.1.23. Modèle conceptuel 291
IV.1.24. Plan d'analyse 291
IV.2. Phase d'analyse - Scénario français 291
IV.2.1. Généralités 291
IV.2.2. Caractérisation de l'exposition - Détermination des valeurs de PEC 292
IV.2.21. Les polluants « traceurs » de risque pour les RUTP du DO du Pont de la Barge 292
IV.2.211. Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » 292
IV.2.212. Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » 293
IV.2.22. Valeurs de PEC pour les organismes de la « colonne d'eau » 293
IV.2.221. Situation 1 : Le jour du prélèvement 293
IV.2.222. Situation 2 : Cas extrême avec $Q_{Rivière}$ nul 294
IV.2.23. Valeurs de PEC pour les organismes du « sédiment » 295
IV.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques - Détermination des valeurs de PNEC 296
IV.2.31. Approche « substances » 296
IV.2.311. Valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » 296
IV.2.312. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment » 297
IV.2.32. Approche « matrice » par la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 297
IV.2.321. Valeurs de $PNEC_{Eau-MBM}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » 297
IV.2.322. Valeurs de $PNEC_{Séd-MBM}$ pour les organismes du « sédiment » 298
IV.3. Caractérisation du risque pour des organismes de la rivière Chaudanne exposés aux RUTP du DO du Pont de la Barge, dans le cadre d'une approche *a priori* 298
IV.3.1. Caractérisation du risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne 298
IV.3.11. Indice de Risque (IR_{Eau-S}) calculé selon l'approche « substances » 298

IV.3.12. Indice de Risque ($IR_{Eau-SEC}$) calculé selon l'approche « substances avec effets combinés » 299
IV.3.13. Indice de Risque ($IR_{Eau-MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 300
IV.3.2. Caractérisation du risque pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne 301
IV.3.21. Indice de risque ($IR_{Séd-S}$) calculé selon l'approche « substances » 301
IV.3.22. Indice de Risque ($IR_{Séd-MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques 302
IV.3.3. Synthèse de la caractérisation du risque dans le cadre de l'EDREcotox *a priori* réalisée pour le scénario de la ville française 302

V. Application sur la base d'une approche *a priori* de la méthodologie d'EDREcotox proposée à un scénario haïtien 304

V.1. Formulation du probleme - Scénario haïtien 304
V.1.1. Introduction et contexte général du scénario etudié 304
V.1.2. Paramètres d'évaluation et modèle conceptuel 305
V.1.21. Stresseurs et source d'émission 305
V.1.22. Ecosystème à protéger et organismes cibles 305
V.1.23. Modèle conceptuel 305
V.1.24. Plan d'analyse 306

V.2. Phase d'analyse - Scénario haïtien 306
V.2.1. Généralités 306
V.2.2. Caractérisation de l'exposition - Détermination des valeurs de PEC 306
V.2.21. Les polluants « traceurs » de risque pour les RUTP du Canal Bois-de-Chêne 306
V.2.211. Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » 306
V.2.212. Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » 307
V.2.22. Valeurs de PEC pour les organismes de la « colonne d'eau » 308
V.2.23. Valeurs de PEC pour les organismes du « sédiment » 309
V.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques - Détermination des valeurs de PNEC 309
V.2.31. Approche « substances » 309
V.2.311. Valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne 309
V.2.312. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne 310
V.2.32. Approche « matrice » par la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 310
V.2.321. Valeurs de $PNEC_{Eau-MBM}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » 310
V.2.322. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment » 311

V.3. Caractérisation finale du risque pour des organismes du Canal Bois-de-Chêne exposés aux RUTP déversés dans ce canal, dans le cadre d'une approche *a priori* 312
V.3.1. Caractérisation du risque pour les organismes de la « colonne d'eau » 312
V.3.11. Indice de Risque (IR_{Eau-S}) calculé selon l'approche « substances » 312
V.3.12. Indice de Risque ($IR_{Eau-SEC}$) calculé selon l'approche « substances avec effets combinés » 313
V.3.13. Indice de Risque ($IR_{Eau-MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 313
V.3.2. Caractérisation du risque pour les organismes du « sédiment » 314
V.3.21. Indice de risque ($IR_{Séd-S}$) calculé selon l'approche « substances » 314
V.3.22. Indice de Risque ($IR_{Séd-MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques 314

V.3.3. Synthèse de la caractérisation du risque dans le cadre de l'EDREcotox *a priori* réalisée pour le scénario de la ville haïtienne 315

VI. EDREcotox pour la rivière chaudanne dans le cadre d'une approche *a posteriori* au moyen d'essais en laboratoire 317

VI.1. Introduction 317

VI.2. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de la rivière Chaudanne 318

VI.2.1. Présentation et analyse des résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'étude 318

VI.2.11. Mesures *in situ* pour les échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude 318

VI.2.111. Le pH 318

VI.2.112. La température 319

VI.2.113. La conductivité 319

VI.2.114. L'oxygène dissous 319

VI.2.12. Mesures en laboratoire : Ammonium, MES, Matière sèche, Perte au feu et DCO 320

VI.2.121. L'ammonium 320

VI.2.122. Les MES 320

VI.2.123. Matière Sèche 322

VI.2.124. Perte au feu 322

VI.2.125. Valeurs de DCO 323

VI.2.13. Concentration des métaux dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 324

VI.2.131. Métaux dissous 324

VI.2.132. Concentration des métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers 326

VI.2.2. Synthèse des caractéristiques chimique des échantillons des 3 stations d'étude 332

VI.2.3. Granulométrie des échantillons des zones benthique et hyporhéique prélevés au niveau des 3 stations d'étude de la rivière Chaudanne 333

VI.2.31. Analyses granulométriques par tamisage 333

VI.2.32. Analyses granulométriques par diffraction laser 334

VI.3. Caractéristiques écotoxicologiques des échantillons des 3 stations d'etude au niveau de la rivière Chaudanne 338

VI.3.1. Résultats des essais *D. magna* 24h et 48h, *V. fischeri* 30mn et *B. calyciflorus* 48h, pour les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique 338

VI.3.11. Echantillon d'Eau de Surface (ES) 339

VI.3.12. Fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone benthique (B) 340

VI.3.13. Fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone hyporhéique (H) 340

VI.3.131. Fraction « EPF » pour les 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne 340

VI.3.132. Fraction « EPF » du point S4-H3 au niveau de la station 4 341

VI.3.14. Appréciation de la réponse globale de la batterie de bioessais mono-spécifiques utilisée 341

VI.3.2. Résultats de l'essai *V. fischeri* 20mn pour la fraction « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique 342

VI.3.3. Résultats de l'essai *H. incongruens* 6j pour les échantillons d'Eau de Surface (ES) et les fractions « Eau et particules fines » et « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique 343

VI.3.31. Essai : *H. incongruens* 6j sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) 343

VI.3.32. Résultats de l'essai *H. incongruens* 6j et du suivi de l'O_2 dissous et de température, pour les fractions « Eau et particules fines » et « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique 344

VI.4. Caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base de l'approche *a posteriori* 348

VI.4.1. Eau de surface 348

VI.4.2. Zone benthique 350

VI.4.3. Zone hyporhéique 352

VI.4.4. Synthèse de la caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base d'une approche *a posteriori* 354

PARTIE D : DISCUSSION..... 355

I. Etude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants présents dans les RUTP 356

I.1. Polluants retenus - Substances étudiées - Organismes tests et milieu d'essai 356

I.1.1. Les choix réalisés 356

I.1.2. Les résultats d'écotoxicité obtenus pour les substances seules 357

I.1.3. Les résultats d'écotoxicité obtenus pour les mélanges binaires 358

I.2. L'etude des effets combinés 358

I.2.1. Les effets combinés observés 358

I.2.2. Effets combinés : Modèle utilisé vs autres modèles existants 360

I.2.3. Effets combinés et EDREcotox 360

I.3. Apport des résultats de la spéciation à la compréhension de l'ecotoxicité des polluants et des effets combinés mis en evidence 360

I.4. Synthèse sur l'etude de l'ecotoxicité et des effets combines des polluants presents dans les RUTP 362

II. La caractérisation des echantillons de RUTP preleves 363

II.1. Les approches utilisées pour la caracterisation physico-chimiques des échantillons de RUTP 363

II.1.1. Choix des sites d'étude et des paramètres dosés dans les échantillons 363

II.1.2. Les résultats physico-chimiques 363

II.1.21. Les caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 363

II.1.22. Les caractéristiques physico-chimiques des RUTP du Canal Bois-de-Chêne 364

II.2. Les approches utilisées pour la caractérisation écotoxicologique des echantillons de RUTP 365

II.2.1. Caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge365

II.2.2. Caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne368

II.3. Comparaison des resultats obtenus pour les deux sites d'étude (France et Haïti) 370

II.3.1. Comparaison des résultats physico-chimiques et écotoxicologiques pour les deux sites 370

II.3.2. Synthèse sur l'approche de caractérisation utilisée pour les échantillons de RUTP 371

III. Application de la méthodologie d'EDREcotox proposée et comparaison entre les résultats obtenus par l'approche *à priori* à ceux obtenus par l'approche *a posteriori* 372

III.1. Résultats obtenus suite a l'application de l'approche *a priori* 372

III.1.1. Résultats obtenus pour le scénario la ville française 372
III.1.2. Résultats obtenus pour le scénario la ville haïtienne 373
III.1.3. Comparaison des résultats obtenus pour les deux sites d'étude 374
III.2. Résultats obtenus pour la rivière du scénario français suite a l'application de l'approche *a posteriori* 374
III.2.1. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude 374
III.2.2. Comparaison aux données existantes issues d'études antérieures réalisées sur la rivière Chaudanne 377
III.3. Comparaison entre les resultats obtenus pour le scénario français sur la base des approches *a priori* et *a posteriori* avec les resultats issus d'etudes antérieures 380
IV. Méthodologie d'EDREcotox proposée : approche *a priori* - approche *a posteriori* 381
IV.1. EDREcotox - Approche *a priori* 381
IV.1.1. Formulation du problème 381
IV.1.2. Phase d'analyse 382
IV.1.3. Caractérisation du risque 383
IV.2. EDREcotox - Approche *a posteriori* 383
IV.2.1. Différents horizons étudiés et points de prélèvement 383
IV.2.2. Caractérisation physico-chimique des échantillons 383
IV.2.3. Caractérisation écotoxicologiques des échantillons 383
IV.2.4. Caractérisation du risque 384
IV.3. EDREcotox : Approche *a priori* vs Approche *a posteriori* 384
V. Limites de cette étude 385
V.1. Limites par rapport à l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés des polluants presents dans les RUTP 385
V.1.1. Limites portant sur le test algue Ps 385
V.1.2. Limites portant sur la non prise en compte de la composante biologique dans les calculs de spéciation 385
V.2. Limites portant sur la caractérisation des échantillons et sur les méthodologies d'EDREcotox *a priori* et *a posteriori* proposées 387
V.2.1. Effets non pris en compte 387
V.3. Incertitudes liées aux résultats obtenus 387
V.3.1. Incertitudes associées à la caractérisation de l'exposition des organismes 387
V.3.2. Incertitudes associées à la caractérisation des effets écotoxicologiques pour les organismes du cours d'eau récepteur 388
V.3.3. Incertitudes associées à la caractérisation du risque pour les organismes du cours d'eau récepteur 388
V.4. La séparation des phases dans la méthodologie d'EDREcotox selon l'approche a posterriori 389
V.5. Limites d'un point de vue général 389
VI. Recommandations 390
VI.1. Pour le scénario français 390
VI.2. Pour le scénario haïtien 391

PARTIE E : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 393

I. Conclusions générales 394

I.1. Aspect scientifique 394

I.1.1. Etudier l'écotoxicité et les effets combinés de polluants généralement présents dans les RUTP 394

I.1.2. Evaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau 395

I.2. Aspect méthodologique 396

I.3. Gestion des RUTP dans le cadre d'un déversement dans les cours d'eau 397

II. Perspectives 398

II.1. Perspectives Scientifiques 398

II.2. Perspectives en terme de developpement d'essais écotoxicologiques ou d'adaptation de protocole existant 399

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 401

ANNEXES 425

LISTE DES PUBLICATIONS

Publications dans des revues à comité de lecture

Angerville R., Boillot C. et Perrodin Y. (2009), Evaluation of the combined effects of binary mixtures of sodium hypochlorite and surfactants against *Daphnia magna Strauss*. Int. J. Environmental Technology and Management, Vol. 10, No. 3 /4, pp. 353 - 370

Emmanuel E., **Angerville R.**, Joseph O. et Perrodin Y. (2007), Human health risk assessment of lead in drinking water: a case study from Prot-au-Prince, Haiti. International Journal of Environment and Pollution, Vol. 31, No. 3 /4, pp. 280 - 291

Congrès avec actes

Angerville R., Emmanuel E. et Perrodin Y. (2007), Impact écotoxique potentiel sur les milieux récepteurs aquatiques des métaux en mélange dans les eaux pluviales urbaines. In : *6ème Conférence Internationale NOVATECH*, Techniques et stratégies durables pour la gestion des eaux urbaines par temps de pluie, Lyon (France), Vol. 3, pp. 1343 - 1350

Communication dans des congrès

Angerville R., Emmanuel E. et Perrodin Y., Toxicity of binary mixtures of heavy metals against the freshwater algae *Pseudokirchneriella subcapitata* (Poster). 45th EUROTOX Congress, Rhodes (Greece), octobre 2008

Angerville R., Emmanuel E. et Perrodin Y. (2007), Impact écotoxique potentiel sur les milieux récepteurs aquatiques des métaux en mélange dans les eaux pluviales urbaines (Communication orale). 6ème Conférence Internationale NOVATECH, Lyon (France), juin 2007

Boillot C., **Angerville R.**, Panouillères M. et Perrodin Y., Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater discharge: Characterization of combined effect due to binary mixtures of three surfactants and three disinfectants towards *Daphnia magna* (Poster). 17th SETAC Europe, Porto (Portugal), mai 2007

LISTE DES ABREVIATIONS

ADEME	Agence pour le DEveloppement et la Maîtrise de l'Energie
AERMC	Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse
AFNOR	Association Française de NORmalisation
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
Bc	*Brachionus calyciflorus* (rotifère F)
CA	Concentration Addition
CAMEP	Centrale Autonome Métropolitaine d'Eau Potable (Port-au-Prince, Haïti)
Cd	Cadmium
Cdu	*Ceriodaphnia dubia (cerio)*
CEAEQ	Centre d'Évaluation et d'Analyse Environnementale du Québec
CE_x	Concentration Efficace x% (avec x = 5 ou 10 ou 20, …).
CE_{50}	Concentration Efficace 50 %. Concentration en polluant qui cause un effet toxique (néfaste) donné chez 50 % des individus exposés (pour une espèce donnée) après un temps d'exposition normalisé
CEMAGREF	Centre d'Etudes du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et Forêts
CIPEL	Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Leman
CNIGS	Centre National de l'Information Géo-Spatiale en Haïti. Le CNIGS est un organisme public sous la tutelle du Ministère de la Planification et de la Coopération Externe
COD	Carbone Organique Dissous
COT	Carbone Organique Total
CSE	Concentration Sans Effet
Cu	Cuivre
CV	Coefficient de Variation
DBO	Demande Biologique en Oxygène - Consommation en oxygène des micro-organismes présents leur permettant d'assimiler les substances organiques présentes
DCO	Demande Chimique en Oxygène - Consommation en oxygène par les oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau
Dm	*Daphnia magna Strauss* (daphnie)
ECB	European Chemicals Bureau
ECETOC	European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
EDR	Evaluation Des Risques
EDRE	Evaluation Des Risques Ecologiques
EDREcotox	Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques
EDTA	EthylèneDiamineTétracétique Acid
ENTPE	Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat

EPA	Environmental Protection Agency
ERB	Environmental Restoration Division
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
Hi	*Heterocypris incongruens* (ostracode F)
IA	Independant Action
IC_{95}	Intervalle de Confiance à 95%
ICPE	Installations Classées pour la Protection de l'Environnement
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
INRS	Institut National de Recherche et de Sécurité
INSA de Lyon	Institut National des Sciences Appliquées de Lyon
INSAVALOR S. A.	Filiale de l'INSA de Lyon créée pour la gestion de ses contrats de recherche et développement
IR	Indice de Risque
IRSN	Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire
ISO	Organisation Internationale de Normalisation
IUCLID	International Uniform Chemical Information Database
LAQUE	Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnementale (UniQ, Haïti)
LCPC	Laboratoire Central des Ponts et Chaussées
LD	Limite de Détection
LGCIE	Laboratoire de Génie Civil et d'Ingénierie Environnementale (INSA de Lyon)
Lm	*Lemna minor* (lentilles d'eau)
LOEC	Lowest Observed Concentration Effect
LQ	Limite de Quantification
LSE	Laboratoire des Sciences de l'Environnement (ENTPE, France)
MATE	Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement
MEDD	Ministère de l'Écologie et du Développement Durable
MES	Matière En Suspension
MS	Masse Sèche
ND	Non Détecté
NF	Norme Française
NOEC	No Observed Concentration Effect (Concentration sans effet observé). Concentration mesurée suite à des essais de toxicité chronique et pour laquelle aucun effet n'est observé
OCDE	Organisation du Commerce et du Développement Economique
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economique
OTHU	Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine
Pb	Plomb
PEC	Previsible or Predicted Environnemental Concentration (Concentration prévisible dans l'environnement). Concentration que l'on s'attend à trouver dans le milieu suite aux différents apports ou encore concentration d'exposition en situation de « pire cas réaliste »

pH	Potentiel Hydrogène
PHREEQC	Logiciel de calcul en géochimie (langage de programmation : C)
PNEC	Previsible or Predicted Non Effect Concentration (Concentration sans effet prévisible sur l'environnement). Concentration estimée à partir de tests de laboratoire et qui détermine un seuil au dessus duquel la substance à un effet sur l'environnement
POLDEN	POLlution, Déchets et ENvironnement
Ps	*Pseudokirchneriella subcapitata* (algue Ps)
QSAR	Quantitative Structure-Activity relationship
q.s.p.	Quantité suffisante pour
RECORD	Réseau COopératif de Recherche sur les Déchets
REGTOX	Macro pour Excel. Version remaniée d'un logiciel de calcul des données de toxicité
RUTP	Rejets Urbains par Temps de Pluie ou Rejets Urbains de Temps de Pluie
SAA	Spectrométrie d'Absorption Atomique
SADA	Spatial Analysis and Decision Assistance
SIDS	Screening Information DataSet
STEP	STation d'EPuration
T (°C)	Température (degré Celcius)
TGD	Technical Guidance Document. Manuel technique d'évaluation des risques chimiques de l'ECB
TI	Toxicity Index
TU	Toxic Unit
UniQ	Université Quisqueya
US EPA	United States Environmental Protection Agency
USGS	United States Geological Survey (U.S. Department of The Interior)
Vf	*Vibrio fischeri*
v/v	Volume/volume
Zn	Zinc

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Origine et occurrence des polluants prioritaires dans les eaux pluviales par rapport à différentes activités et différents rejets [Eriksson *et al.*, 2007] 37

Tableau 2 : Caractéristiques granulométriques des particules contenues dans différents types de RUTP [Chebbo, 1992] 39

Tableau 3 : Gammes de concentrations rencontrées dans la littérature, dans des rejets pluviaux urbains bruts de diverses origines ((np) : non précisé ; (a) déversoirs d'orage en réseau unitaire ; (b) en réseau séparatif, (c) eaux de ruissellement autoroutières ; (d) divers : parkings, chaussées, etc.) [Parent-Raoult, 2004] 47

Tableau 4 : Les différentes approches des méthodologies d'EDRE (applications et principaux guides) [RECORD, 2006] ; [Boillot, 2008] 65

Tableau 5 : Utilisation des facteurs d'extrapolation dans l'évaluation des PNEC [INERIS, 2003a] 71

Tableau 6 : Modalités de calcul de l'Indice de Risque (IR) pour les approches substances et bioessais (tiré de [Donguy et Perrodin, 2007]) 73

Tableau 7 : Classification des interactions de substances en mélange (proposition de : [Bliss, 1939]) 81

Tableau 8 : Classification des interactions de substances en mélange (adaptation de la proposition de [Plackett et Hewlett, 1952]) 82

Tableau 9 : Exemples de différents termes les plus utilisés pour décrire différents types d'interactions (de [Marking, 1985] et adapté par [Warne, 2003]) 83

Tableau 10 : Avantages et limites des différentes stratégies d'approches de la caractérisation des effets dans les EDREcotox ([Boillot, 2008] ; version améliorée par Angerville) 93

Tableau 11 : Exemples d'organismes tests utilisés en milieu aquatique pour la caractérisation des effets écotoxicologiques (liste non exhaustive) 96

Tableau 12 : Exemples de microcosmes et de mésocosmes utilisés en milieu aquatique (liste non exhaustive) 97

Tableau 13 : Informations techniques sur les substances étudiées 107

Tableau 14 : Données écotoxicologiques sur les substances étudiées, vis-à-vis d'organismes d'eau douce 108

Tableau 15 : Organismes tests utilisés pour l'étude de l'écotoxicité des solutions et des mélanges binaires synthétiques 109

Tableau 16 : Solutions et mélanges binaires synthétiques testés vis-à-vis de chaque organisme test 113

Tableau 17 : Concordance des expressions pour les mélanges binaires (ratio vs % de chaque substance dans le mélange) 115

Tableau 18 : Plan d'analyse de la méthodologie d'EDREcotox proposée 129

Tableau 19 : Classes granulométriques [Wentworth, 1922] 133

Tableau 20 : Organismes et critères d'effet pour les essais mono-spécifiques constituant la batterie de bioessais sélectionnés pour la caractérisation écotoxicologique d'un échantillon de RUTP 154

Tableau 21 : Caractérisation physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 165

Tableau 22 : Paramètres de caractérisation des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 167

Tableau 23 : Analyses réalisées sur une fraction préalablement congelée de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge et soumise à des essais écotoxicologiques : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 169

Tableau 24 : Bioessais mono-spécifiques mis en œuvre et préparation de l'échantillon de RUTP prélevé en France au niveau du DO du Pont de la Barge 175

Tableau 25 : Caractérisation physico-chimique des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 183

Tableau 26 : Bioessais mono-spécifiques mis en œuvre et préparation des échantillons de RUTP prélevés en Haïti dans le Canal Bois-de-Chêne 190

Tableau 27 : Caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 201

Tableau 28 : Analyses réalisées sur les particules et les sédiments des échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 202

Tableau 29 : Synthèse des bioessais mis en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne pour chacune des 3 stations d'étude 210

Tableau 30 : Grille expérimentale relative à l'étude de l'écotoxicité des substances et des mélanges binaires testés ainsi que de leurs effets combinés vis-à-vis des organismes tests retenus 215

Tableau 31 : Valeurs de CE_{50}-24h pour les substances testées vis-à-vis de *D. magna* 217

Tableau 32 : Valeurs de CE_{50}-72h pour les nitrates métalliques testés vis-à-vis de *P. subcapitata* 219

Tableau 33 : Mélanges binaires où le nitrate de Cu est majoritaire et qui présentent des effets toxiques pratiquement équivalents vis-à-vis de la daphnie 233

Tableau 34 : Définition des types d'effets combinés observés sur une base colorimétrique 234

Tableau 35 : Solution de substance seule - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna* 241

Tableau 36 : Solution de substance seule - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata* 242

Tableau 37 : Mélanges binaires (Cd-Cu ; Cd-Zn ; Zn-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna* 244

Tableau 38 : Mélanges binaires (Pb-Cd ; Pb-Cu ; Pb-Zn) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna* 245

Tableau 39 : Mélanges binaires (NH4-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna* 246

Tableau 40 : Mélanges binaires (Cd-Cu ; Cd-Zn ; Zn-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata* 248

Tableau 41 : Mélanges binaires (Pb-Cd ; Pb-Cu ; Pb-Zn) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata* 249

Tableau 42 : Estimation, au moyen des résultats des calculs de spéciation, de la concentration en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50}-24h expérimentales obtenues pour les solutions testées vis-à-vis de *D. magna* 250

Tableau 43 : Estimation, au moyen des résultats des calculs de spéciation, de la concentration en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50}-72h expérimentales obtenues pour les solutions testées vis-à-vis de *P. subcapitata* 251

Tableau 44 : Appréciation des effets combinés observés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis de *D. magna* au moyen des résultats des calculs de spéciation 252

Tableau 45 : Appréciation des effets combinés observés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis de *P. subcapitata* au moyen des résultats des calculs de spéciation 253

Tableau 46 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 257

Tableau 47 : Fourchettes de valeurs pour les mesures réalisées par le CEMAGREF de Lyon pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 258

Tableau 48 : Résultats de l'analyse physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 259

Tableau 49 : Caractéristiques des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 260

Tableau 50 : Résultats des paramètres dosés pour une fraction préalablement congelée de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 261

Tableau 51 : Classes granulométriques pour les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge en France 269

Tableau 52 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 275

Tableau 53 : Résultats pour les paramètres dosés dans les échantillons « frais » de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 276

Tableau 54 : Résultats des paramètres dosés pour des fractions préalablement congelées des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 277

Tableau 55 : Caractéristiques des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 278

Tableau 56 : Classes granulométriques pour les particules des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne en Haïti 284

Tableau 57 : Ecotoxicité des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne vis-à-vis des ostracodes 287

Tableau 58 : Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne exposés aux RUTP du DO du Pont de la Barge 292

Tableau 59 : Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » pour la rivière Chaudanne 293

Tableau 60 : Valeurs de PEC_{Eau-S} estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » pour les 2 situations étudiées 295

Tableau 61 : Valeurs de $PEC_{Séd}$ estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne 295

Tableau 62 : Valeurs de $PNEC_{Eau}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne 296

Tableau 63 : Valeurs de $PNEC_{Séd}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » de la rivière Chaudanne 297

Tableau 64 : Valeurs de l'indice de risque IR_{Eau-S} calculé pour les 2 situations étudiées pour la « colonne d'eau » dans le cadre d'une approche « substances » 299

Tableau 65 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Eau-MBM}$) calculé pour les 2 situations étudiées pour la « colonne d'eau » dans le cadre d'une approche « matrice » 300

Tableau 66 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Séd-S}$) déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » de la rivière Chaudanne - Approche « substances » 301

Tableau 67 : Caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base d'une EDREcotox *a priori* 302

Tableau 68 : Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne exposés aux RUTP qui y sont déversés 307

Tableau 69 : Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne 307

Tableau 70 : Valeurs de PEC_{Eau} estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne 308

Tableau 71 : Valeurs de $PEC_{Séd}$ estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne 309

Tableau 72 : Valeurs de $PNEC_{Eau}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne 310

Tableau 73 : Valeurs de $PNEC_{Séd}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » du Canal Bois-de-Chêne 310

Tableau 74 : Valeurs de l'indice de risque IR_{Eau-S} calculé pour les organismes de la « colonne d'eau » pour les 2 points de prélèvement dans le Canal Bois-de-Chêne, dans le cadre d'une approche « substances » 312

Tableau 75 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Eau-MBM}$) calculé, sur la base d'une approche « matrice », pour les organismes de la colonne d'eau pour les 2 échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne 313

Tableau 76 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Séd-S}$) déterminées pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne 314

Tableau 77 : Caractérisation du risque pour les organismes du Canal Bois-de-Chêne sur la base d'une EDREcotox *a priori* 315

Tableau 78 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de la rivière Chaudanne 317

Tableau 79 : Mesures *in situ* réalisées pour les échantillons de la zone hyporhéique pour les 3 stations d'étude 318

Tableau 80 : Résultats de paramètres dosés en laboratoire pour les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 321

Tableau 81 : Mesures de DCO réalisées pour les échantillons des 3 stations d'étude 323

Tableau 82 : Pourcentage de graviers contenu dans les échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne 334

Tableau 83 : Classes granulométriques constituants les 3 fractions des échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne 337

Tableau 84 : Ecotoxicité des échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne vis-à-vis des ostracodes 343

Tableau 85 : Ecotoxicité et suivi de l'O_2 dissous et de la température des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne vis-à-vis des ostracodes 347

Tableau 86 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes de la colonne d'eau des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 349

Tableau 87 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes du compartiment benthique des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 351

Tableau 88 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes du compartiment hyporhéique des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 353

Tableau 89 : Valeurs obtenues pour les critères d'effet des essais osctracodes réalisés en Haïti 452

Tableau 90 : Variation moyenne des valeurs des critères d'effet de l'essai osctracode en fonction de la température 454

Tableau 91 : Variation des valeurs des critères d'effet de l'essai osctracode en fonction de la température et du mode de conservation des échantillons de RUTP prélevés en Haïti 454

Tableau 92 : Concentration en métaux dissous dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 462

Tableau 93 : Concentration en métaux dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne 462

Tableau 94 : Concentration en métaux dosés dans l'échantillon hyporhéique S4-H3 463

Tableau 95 : Caractérisation physico-chimique des échantillons du rejet provenant de la zone commerciale : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ) 470

Tableau 96 : Synthèse des bioessais mis en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique du rejet provenant de la zone commerciale (campagne de prélèvements d'avril 2008) 471

Tableau 97 : Résultats des paramètres dosés pour les échantillons du rejet provenant de la zone commerciale 472

Tableau 98 : Ecotoxicité des échantillons de la zone commerciale vis-à-vis des ostracodes 477

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Modifications du bilan hydrique en fonction du taux d'imperméabilisation du sol (selon [US EPA, 1999a] et tirée de [Arambourou, 2007]) 34

Figure 2 : Principales sources de polluants en milieux routier et urbain [Durand, 2003] 36

Figure 3 : Taille des particules selon Sigg *et al.* [1992] 39

Figure 4 : Echelles de temps et d'espace relatives à l'impact des rejets urbains (tirées de [Chocat, 1997]) 51

Figure 5 : Vue spatiale des Antilles (adaptée de [Porcena Meneus, 2007]) 55

Figure 6 : Principales phases d'une méthodologie générale d'EDRE 67

Figure 7 : Stratégies de caractérisation des effets écotoxicologiques d'après [Boillot, 2008] (version modifiée) ; (BDI : Bases de Données Internationales) 76

Figure 8 : Les étapes et les outils associés à l'approche « substances » [Boillot, 2008] 78

Figure 9 : Exemple des trois réponses possibles en terme d'inhibition de la croissance d'une algue soumise au stress de mélanges de deux métaux (M_1 et M_2) par rapport à un témoin [Jan Stevenson *et al.*, 1996] 80

Figure 10 : Exemples d'isobologrammes : (a) "de compréhension" [Calamari et Alabaster, 1980] ; (b) : "qualitatif" [Warne, 2003] 85

Figure 11 : Démarche optimale d'élaboration d'une batterie d'essais en fonction du scénario choisi d'utilisation des tests [Charissou *et al.*, 2006] 91

Figure 12 : Protocole de préparation des solutions mères pour les différentes substances chimiques étudiées 114

Figure 13 : Protocole de préparation des solutions synthétiques et des différents ratios de mélanges binaires entre les entités chimiques étudiées (tirée de [Boillot, 2008]) 115

Figure 14 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du bioessai Dm 24 h 116

Figure 15 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du bioessai Ps 72 h (* : Pas d'inoculum dans les témoins négatifs) 117

Figure 16 : Représentation schématique du scénario d'étude 124

Figure 17 : Modèle conceptuel « simplifié » proposé pour le scénario étudié 128

Figure 18 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Phase Liquide sur la fraction « eau » d'un échantillon de RUTP 140

Figure 19 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du test algue Ps sur la fraction « eau » d'un échantillon de RUTP 142

Figure 20 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Basic Solid Phase Test (avec I_0) sur la fraction particulaire d'un RUTP 149

Figure 21 : Démarche retenue pour la caractérisation des effets écotoxicologiques d'un échantillon de RUTP selon une approche « matrice » au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques 153

Figure 22 : Bassin-versant de la Chaudanne jusqu'au DO du Pont de la Barge (Carte IGN 2931 E : l'Arbresle ; tirée de [Gnouma, 2002]) 160

Figure 23 : Présentation de la zone à proximité du Pont de la Barge (Photos : [Gnouma, 2006] ; Angerville, 2008) 161

Figure 24 : Prise de vue de la zone de prélèvement au cours d'un épisode pluvieux (Photo : [Gnouma, 2006]) 162

Figure 25 : Bassin-versant du Canal Bois-de-Chêne pour les points de prélèvement considérés 178

Figure 26 : Plan de situation des stations d'étude du CEMAGREF de Lyon (Image tirée de [Vivier, 2006] et retouchée par Angerville) 193

Figure 27 : Données pluviométrique et de débits (rivière Chaudanne et DO) pour la période allant du 01/02/2008 au 30/04/2008 (source : CEMAGREF de Lyon) 194

Figure 28 : Vue aérienne d'un tronçon de la rivière chaudanne se limitant à la zone d'étude avec la position approximative des points de prélèvement (S2, S3 et S4) (sans échelle) 195

Figure 29 : Coupe longitudinale d'un seuil géomorphologique de la rivière - Position approximative des points de prélèvement en fonction des horizons d'étude (adaptée de : http://depts.washington.edu/natmap/water/1fldhypo.html et [Cournoyer, 2009]) 196

Figure 30 : Matériels et dispositif de prélèvement des échantillons de la zone benthique (photos : [Motte, 2008] ; Angerville, 2008) 197

Figure 31 : Matériels et dispositif de prélèvement des échantillons de la zone hyporhéique (photos : Angerville, 2008) 198

Figure 32 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Phase Liquide sur les échantillons d'eau de surface 204

Figure 33 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique 205

Figure 34 : Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Solid-Phase sur les sédiments des zones benthique et hyporhéique 206

Figure 35 : Démarche retenue pour la caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons des 3 stations d'étude la rivière Chaudanne 209

Figure 36 : Courbes concentrations-effets des substances étudiées vis-à-vis de *D. magna* 216

Figure 37 : Courbes concentrations-effets des substances étudiées vis-à-vis de *P. subcapitata* 218

Figure 38 : CE_{50}-24h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Cd-Cu, Cd-Zn, Zn-Cu) vis-à-vis de *D. magna* 225

Figure 39 : CE_{50}-24h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) vis-à-vis de *D. magna* 226

Figure 40 : CE_{50}-24h et IC95% du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna* 228

Figure 41 : CE_{50}-72h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Cd-Cu, Cd-Zn, Zn-Cu) vis-à-vis de *P. subcapitata* 231

Figure 42 : CE_{50}-72h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) vis-à-vis de *P. subcapitata* 232

Figure 43 : TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna* 235

Figure 44 : TI du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna* 236

Figure 45 : TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata* 237

Figure 46 : Courbes granulométriques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge 268

Figure 47 : Caractéristiques écotoxicologiques de la fraction « eau » des RUTP du DO du Pont de la Barge 270

Figure 48 : Caractéristiques écotoxicologiques des « particules » contenues dans l'échantillon de RUTP prélevé en France 271

Figure 49 : Caractéristiques écotoxicologiques d'une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP prélevé en France 272

Figure 50 : Courbes granulométriques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne 283

Figure 51 : Caractéristiques écotoxicologiques de la fraction « eau » des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne 285

Figure 52 : Caractéristiques écotoxicologiques des « particules » contenues dans les échantillons de RUTP prélevés en Haïti 287

Figure 53 : Scénario français - Déversoir d'orage (DO) déversant des RUTP dans la rivière Chaudanne 290

Figure 54 : Scénario haïtien - Vues du Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince hors épisode pluvieux et au cours d'un épisode pluvieux (photos : Angerville, 2008) 305

Figure 55 : Concentrations en métaux dissous dosés dans les échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude 324

Figure 56 : Concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone benthique des 3 stations d'étude 325

Figure 57 : Concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude 326

Figure 58 : Concentrations en métaux dosés dans les particules des échantillons d'eau de surface pour les 3 stations d'étude 327

Figure 59 : Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique pour les 3 stations d'étude 329

Figure 60 : Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique pour les 3 stations d'étude 330

Figure 61 : Concentrations en métaux dissous dosés dans le surnageant de l'échantillon S4-H3 331

Figure 62 : Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers de l'échantillon S4-H3 332

Figure 63 : Courbes granulométriques des échantillons des stations de prélèvement au niveau de la rivière Chaudanne 336

Figure 64 : Ecotoxicité des échantillons d'eau de surface (ES) et de la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude 339

Figure 65 : Ecotoxicité de la fraction « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude vis-à-vis de *V. fischeri* 342

Figure 66 : Courbe décrivant différents aspects du phénomène d'hormèse (caractèristique quantitative, magnitude, …) [Calabrese, 2008] 438

Figure 67 : Dispositif mis en place pour la réalisation de l'essai ostracode à 29 °C en France (Photo : Angerville, 2007) 453

Figure 68 : Rejet issu de la zone commerciale se déversant dans la rivière Chaudanne, en amont immédiat de S4 468

Figure 69 : Caractéristiques écotoxicologiques des échantillons du rejet provenant de la zone commerciale et se déversant dans la rivière Chaudanne 476

INTRODUCTION

I. CONTEXTE GENERAL

« Lorsqu'il pleut, la ville prend une douche (et parfois même un bain !) ; mais que fait-on de l'eau sale ? ou plus exactement que devient l'eau sale lorsqu'elle rejoint le milieu naturel et quels sont ses effets sur ce dernier ? » [Chocat *et al.*, 1993]. Ces propos posent clairement la problématique globale dans laquelle s'inscrit ce travail de thèse.

Le même auteur, Chocat [1997], définit les Rejets Urbains par Temps de Pluie ou Rejets Urbains de Temps de Pluie (RUTP) comme étant l'ensemble des rejets urbains dus aux exutoires pluviaux, aux déversoirs d'orage et à la station d'épuration pendant les périodes pluvieuses.

Les RUTP sont donc constituées de 2 composantes : les « eaux usées urbaines » et les « eaux pluviales urbaines ».

- Les eaux usées ont fait l'objet de plusieurs études qui ont souligné la nécessité de la construction de STations d'EPuration (STEP) en vue de réduire les charges polluantes contenues dans ces eaux (domestiques, industrielles, ou de certaines activités humaines spécifiques).
- En ce qui concerne les eaux pluviales, elles sont également connues pour contenir des polluants provenant du lessivage atmosphérique, du lessivage des sols, des réseaux d'assainissement. Les polluants sont généralement en quantités importantes dans ces rejets, surtout pour les rejets pluviaux des bassins-versants urbains. Les données de la littérature soulignent que leur déversement dans les milieux aquatiques porte atteinte à la qualité physico-chimique des biotopes ([Chocat *et al.*, 1993] ; [Parent-Raoult, 2004]) et affecte les organismes à différents niveaux d'organisation biologique ([Mulliss *et al.*, 1997] ; [Parent-Raoult, 2004]). Ces constatations ont conduit à la recherche de techniques alternatives de gestion des eaux pluviales urbaines qui font l'objet d'études visant à optimiser leur fonctionnement en vue de réduire les impacts néfastes des eaux pluviales urbaines sur l'environnement.

Le déversement, sans traitement préalable, des RUTP dans les milieux récepteurs, en particulier dans les cours d'eau péri-urbains, présentent donc un risque d'impact sur les écosystèmes des milieux concernés. Des études sur site, notamment dans la région Rhône-Alpes (en France), ont déjà mis en évidence ces impacts sur les écosystèmes lotiques. Néanmoins, ces résultats permettent difficilement d'apprécier la part de la toxicité intrinsèque des RUTP qui est responsable des effets observés, indépendamment des effets liés à la dégradation physique du milieu concerné (colmatage, …), ou des effets liés à la baisse du taux d'oxygène dissous dans le milieu, elle-même liée notamment à la dégradation de la matière organique contenue dans les RUTP.

Dans ce contexte, cette thèse porte sur l'élaboration d'une méthodologie d'Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau. Cette

méthodologie globale comporte deux démarches complémentaires permettant d'évaluer les risques liés à un tel scénario :

- une démarche dite « *a priori* », basée sur l'analyse des caractéristiques physico-chimiques et écotoxicologiques des RUTP déversés dans le cours d'eau, et sur l'évaluation du devenir des RUTP dans le cours d'eau ;
- une démarche dite « *a posteriori* », élaborée sur la base d'une comparaison entre deux états du cours d'eau : un « état amont » non soumis à des déversements de RUTP, et un « état aval » soumis à des déversements de RUTP.

Ces deux démarches seront appliquées aux sites d'étude retenus dans le cadre de ce travail : l'un se trouvant dans la commune de Grézieu-La-Varenne, en France (pays du Nord) et l'autre se trouvant à Port-au-Prince, la capitale d'Haïti (pays du Sud), en vue d'apprécier, sur ces deux exemples très différents, le degré de cohérence de la démarche méthodologique élaborée.

II. LES OBJECTIFS DE LA THESE

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'une réflexion commune entre plusieurs établissements ou équipes de recherche sur la problématique des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) vis-à-vis des cours d'eau péri-urbains, dont : le Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE) de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat (ENTPE), le Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement (LAQUE) de l'Université Quisqueya (UniQ) en Haïti, le Centre d'Etudes du Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et Forêts de Lyon (CEMAGREF de Lyon), l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU), …

Son objectif général est d'élaborer une méthodologie d'évaluation des risques écotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau, en vue de fournir des outils d'aide à la décision aux gestionnaires. Cet objectif général peut être subdivisé en 3 objectifs particuliers, complémentaires : l'un, d'ordre scientifique ; un autre, d'ordre méthodologique ; et le dernier, en terme de contribution à la réflexion globale sur les stratégies durables de gestion des RUTP.

- ***Objectifs scientifiques***

En ce qui concerne l'aspect scientifique, ce travail de thèse vise à améliorer les connaissances sur les mécanismes conduisant à un impact des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) sur les écosystèmes aquatiques lotiques :

- en réalisant une étude de l'écotoxicité et des effets combinés des principaux polluants généralement présents dans les RUTP, vis-à-vis de 2 organismes aquatiques d'eau douce : *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* ;
- en procédant à la caractérisation physico-chimique des fractions « eau » et « particules » d'échantillons de RUTP provenant de sites d'étude et de pays différents (France et Haïti), et en appréciant leurs effets écotoxicologiques vis-à-vis de différents organismes

représentatifs des différents compartiments d'un cours d'eau, au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques mis en œuvre au laboratoire ;

- ***Objectifs méthodologiques***

En termes d'objectifs méthodologiques, cette thèse se propose, dans un premier temps, de développer deux démarches méthodologiques d'Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) associées à la problématique de « déversement de RUTP dans les milieux lotiques », et se basant essentiellement sur la réalisation de bioessais en laboratoire. La première démarche repose sur une approche *a priori* de la problématique, tandis que la seconde repose sur une approche *a posterio* du problème.

Une fois ces méthodologies élaborées, elles seront testées en les appliquant à des situations réelles de déversement de RUTP dans des cours d'eau. Ces méthodologies seront donc appliquées à un scénario français et à un scénario haïtien en vue d'apprécier les risques mis en évidence pour chacun de ces *scenarii*.

A noter que l'atteinte des objectifs scientifiques présentés ci-dessus constitue une étape préalable indispensable à cette activité d'élaboration et d'application de démarches méthodologiques.

- ***Contribution à l'amélioration des pratiques de gestion des RUTP***

En ce qui concerne ce dernier objectif, ce travail de thèse vise à mettre à la disposition du gestionnaire, un outil adapté et utilisable en vue de mettre en évidence les risques découlant de ce mode de gestion des RUTP.

Le gestionnaire disposera ainsi d'un outil lui permettant d'approcher globalement le problème aussi bien pour le cas d'un déversement existant que dans le cadre de l'élaboration d'un nouveau projet.

III. STRUCTURATION DU DOCUMENT

Ce manuscrit est constitué de 5 grandes parties :

- ***La première partie*** présente une synthèse bibliographique détaillée, non exhaustive, des informations issues de la littérature (notions, concepts, méthodes et quelques principaux résultats) qui sont essentiels à l'élaboration de ce travail ainsi que pour sa compréhension. Elle se divise en deux sections. La première regroupe l'essentiel des informations disponibles sur les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP). La deuxième section synthétise les informations sur les méthodologies d'Evaluation Des Risques (EDR) pour l'environnement et les différents types d'approches qui peuvent être utilisés pour évaluer le risque se rapportant à une source de pollution, selon les approches utilisées pour caractériser les effets écotoxicologiques associés à cette source de pollution.

- ***La deuxième partie*** présente les matériels et méthodes expérimentales dans le cadre :

  i) d'une étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants généralement présents dans les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) vis-à-vis de *Daphnia magna* et de *Pseudokirchneriella subcapitata* ;

  ii) de l'élaboration d'une démarche méthodologique d'évaluation des risques écotoxicologiques (EDREcotox) pour le scénario de déversement de RUTP dans un cours d'eau. Cette démarche repose sur une approche *a priori* qui est basée sur la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique d'échantillons de RUTP avant leur rejet dans la rivière ;

  iii) de la démarche adoptée pour l'application de la méthodologie d'EDREcotox *a priori* élaborée, à deux *scenarii* différents : un en France et un en Haïti. Pour une meilleure lisibilité du document et en raison de la spécificité de chacun de ces sites d'étude, le choix a été fait de présenter séparément les démarches adoptées pour la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP prélevés dans chacun de ces pays ;

  iV) de l'élaboration d'une démarche d'évaluation des risques écotoxicologiques (EDREcotox) basée sur une approche *a posteriori* pour un cours d'eau péri-urbain français soumis à des déversements de RUTP. Cette démarche repose sur la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique d'échantillons prélevés dans les différents compartiments de la rivière péri-urbaine du scénario français dont un tronçon est exposé depuis de nombreuses années à des rejets d'un Déversoir d'Orage (DO).

- ***La troisième partie*** présente les résultats expérimentaux obtenus suite à :

  i) l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants présents dans les RUTP ;

  ii) la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP prélevés en France (Déversoir d'Orage du Pont de la Barge, à Grézieu-La-Varenne) et en Haïti (Canal Bois-de-Chêne, à Port-au-Prince) ;

  iii) l'application de la méthodologie d'EDREcotox a priori au scénario français et au scénario haïtien ;

  iv) l'application de la méthodologie d'EDREcotox *a posteriori* au scénario français.

- ***La quatrième partie*** discute des choix réalisés ainsi que des différents résultats obtenus, en essayant de les expliquer, dans un premier temps, sur la base des données bibliographiques existantes en la matière. Dans un second temps, ces résultats sont comparés entre eux sur la base des sites d'étude retenus et des approches méthodologiques appliquées (*a priori*, *a posteriori*) pour essayer de dégager les principales cohérences qui ressortent, et comment l'ensemble de ces résultats contribuent à une amélioration de l'état des connaissances sur la problématique des RUTP vis-à-vis des écosystèmes lotiques. Cette partie se termine par la

présentation des limites de cette étude. Quelques recommandations sont formulées dans à la fin de cette partie.

- ***La cinquième*** et dernière ***partie*** du manuscrit présente les principales conclusions tirées de cette étude, et se termine par la proposition de certaines perspectives de recherche.

PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans cette partie sont synthétisés, de manière non exhaustive, les éléments d'information issus de la littérature (notions, concepts, méthodes et quelques principaux résultats) qui sont essentiels à l'élaboration de ce travail ainsi que pour sa compréhension. Elle se divise en deux sections :

- **la première section** regroupe l'essentiel des informations disponibles sur les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP), dont, notamment leur origine, leurs principales caractéristiques ainsi que les techniques utilisées en matière de gestion de ces rejets dans les Pays Développés et les Pays en Voie de Développement ;
- **la deuxième section** synthétise les informations sur les méthodologies d'Evaluation Des Risques (EDR) pour l'environnement (écologiques, environnementales, écotoxicologiques). On retrouve dans cette section des informations sur les principales étapes constituant les méthodologies existantes. Sont également présentés dans cette section, les détails sur les différents types d'approches qui peuvent être utilisés pour évaluer le risque se rapportant à une source de pollution, sur la base des approches utilisées pour caractériser les effets écotoxicologiques associés à cette source de pollution.

LES REJETS URBAINS PAR TEMPS DE PLUIE (RUTP)

I. LES REJETS URBAINS PAR TEMPS DE PLUIE (RUTP)

I.1. TERMINOLOGIE ET ORIGINE DES REJETS URBAINS PAR TEMPS DE PLUIE (RUTP)

L'expression « Rejets Urbains par Temps de Pluie » ou « Rejets Urbains de Temps de Pluie » (RUTP), selon les auteurs, désigne, selon Hémain [1987], toutes les eaux qui, tombant sur un bassin-versant urbanisé, rejoignent le milieu récepteur sans passer par un système d'épuration : eaux de pluie, eaux de ruissellement, rejets à l'exutoire des réseaux séparatifs pluviaux, surverses de réseaux unitaires. Chocat *et al.* [2007] soulignent que les RUTP peuvent être vus comme l'ensemble des eaux rejetées : i) par les installations d'épuration (mélange d'eaux usées et d'eaux pluviales traitées), ii) par les déversoirs d'orage (mélanges d'eaux usées et d'eaux pluviales non traitées) et iii) par les exutoires pluviaux (eaux pluviales généralement non traitées), pendant un événement pluvieux et pendant la période de temps qui lui succède, au cours de laquelle le système d'assainissement n'a pas encore retrouvé un fonctionnement nominal de temps sec.

Parfois on parle spécifiquement de Rejets Unitaires de Temps de Pluie pour désigner le mélange d'eaux usées et d'eaux pluviales rejeté par les Déversoirs d'Orage (DO) pendant les périodes de précipitation [Chocat, 1997].

Le bassin-versant et son taux d'urbanisation, le type de réseau d'assainissement ainsi que les précipitations et leur durée dans le temps constituent autant de facteurs qui déterminent les caractéristiques des RUTP ainsi que leur niveau de pollution. La **Figure 1** permet de comprendre le lien qui existe entre le bilan hydrique à l'échelle d'une ville ou d'un bassin-versant et l'évolution de son taux d'urbanisation.

Figure 1 : **Modifications du bilan hydrique en fonction du taux d'imperméabilisation du sol (selon [US EPA, 1999a] et tirée de [Arambourou, 2007])**

L'augmentation de l'urbanisation conduit également à certaines autres nuisances telles que le dysfonctionnement des réseaux d'assainissement, les inondations, …. Cette modification de la répartition entre surfaces aménagées (construites, imperméabilisées) et surfaces non-aménagées influence également les flux ainsi que la charge polluante des RUTP générés à l'échelle considérée [US EPA, 1999a]. D'ailleurs, tous les milieux scientifiques s'accordent maintenant pour reconnaître que l'eau de pluie, lorsqu'elle tombe sur une ville et la traverse en ressort fortement polluée et est, à ce titre, néfaste pour les milieux naturels [Chocat *et al.*, 1993] ; [Saget, 1994] ; [US EPA, 1999a].

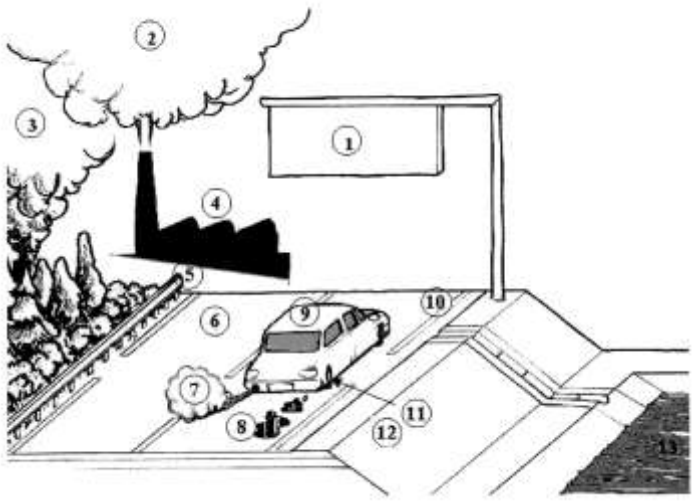
I.2. CARACTERISTIQUES DES REJETS URBAINS PAR TEMPS DE PLUIE (RUTP)

I.2.1. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des RUTP

Pendant longtemps, on pensait que l'eau de pluie, l'une des composantes des RUTP, diluait les eaux usées permettant ainsi leur rejet en rivière sans impacts nocifs ; ce qui a d'ailleurs justifié, notamment en France, l'utilisation des déversoirs d'orages [ENGEES/Veolia Water/Anjou Recherche, 2006].

Mais, les études menées dans le domaine de la gestion des rejets liquides ont fini par révéler que les RUTP contenaient une grande variété de polluants ayant de multiples origines : i) l'atmosphère et l'eau de pluie elle-même, ii) les surfaces des bassins-versants urbains sur lesquelles le ruissellement se produit, et iii) les réseaux d'assainissement, notamment unitaires [Chocat *et al.*, 2007]. Plusieurs études ont déjà été conduites sur l'origine et les concentrations des polluants contenus dans ces types de rejets : [Saget, 1994] ; [Mikkelsen *et al.*, 1994] ; [Pitt *et al.*, 1995] ; [Chocat, 1997] ; [US EPA, 1999a] ; [Durand, 2003] ; [Chocat *et al.*, 2007] ; [Eriksson *et al.*, 2007], etc .

Durand [2003] a réalisé une étude dans lequel il présente une synthèse (voir **Figure 2**) des principales sources responsables de la présence de polluants, tels que certains métaux traces et polluants organiques, dans les eaux de ruissellement urbains.



1 : panneaux de signalisation ; 2 : combustions industrielles, domestiques, … ; 3 : feu de forêts ;
4 : toitures ; 5 : glissières de sécurité ; 6 : routes (enrobés) ; 7 : combustion de l'échappement ; 8 : huiles ;
9 : carrosserie ; 10 : peintures ; 11 : pneumatiques ; 12 : garnitures de freins ; 13 : boues de bassins

Figure 2 : **Principales sources de polluants en milieux routier et urbain [Durand, 2003]**

- ***Métaux traces :*** Cadmium (1, 2, 8, 11, 13) ; Chrome (2, 9, 10, 13) ; Cuivre (2, 4, 9, 12, 13) ; Plomb (2, 4, 7, 12, 13) ; Zinc (1, 2, 4, 5, 8, 11, 13).
- ***Les hydrocarbures et les HAP*** (2, 3, 6, 7, 8, 11, 13).

La littérature relate que, selon leur origine, les RUTP n'ont pas les mêmes caractéristiques. Mais, d'une manière générale, on retrouvera dans ces rejets ([Chocat, 1994] ; [US EPA, 1999a] ; [Nogueira, 2001] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Vivier, 2006]) :

- des matières organiques biodégradables (principalement constituées de graisses, de sucres, de protéines) ;
- des substances nutritives (sels d'azote et de phosphore) ;
- des bactéries et des virus ;
- des micro-polluants (métaux lourds, hydrocarbures, pesticides, …) ; ils ont généralement une origine anthropique et sont susceptibles d'avoir une action toxique à des concentrations infimes (de l'ordre du µg/L ou moins) ;
- des matières en suspension (MES) ;
- de l'eau chaude ;
- des macro-déchets (sacs plastiques, bidons, pneus, carcasses métalliques diverses de vélos ou d'automobiles, …).

En vue d'apprécier cette pollution, Eriksson *et al.* [2007] ont proposé une liste de 25 polluants prioritaires à examiner dans les eaux pluviales urbaines ; la présence de 22 de ces polluants a déjà été confirmée dans ces rejets (voir Tableau 1). Dans le cadre de programme spécifique de recherche cette liste peut être augmentée : Bertrand-Kajewski *et al.* [2008] ont établi une liste de 41 polluants.

Tableau 1 : Origine et occurrence des polluants prioritaires dans les eaux pluviales par rapport à différentes activités et différents rejets [Eriksson *et al.*, 2007]

Constituent	Potential contribution		Natural processes	Confirmed presence	
	Release from urban materials[1]	Anthropogenic activities[1]		Wet and dry deposition[1]	Urban stormwater[2]
BOD			X		X
COD			X		X
SS			X		X
N		X	X		X
pH	–				
P		X	X		X
Cd	X			X	X
Cr	X		X[5]	X	X
Cu	X		X[5]	X	X
Ni	X		X[5]	X	X
Pb	X	X[4]	X[5]	X	X
Pt	X[3]				X
Zn	X		X[5]	X	X
Naphthalene	X	X	X	X	X
Pyrene	X	X	X	X	X
BaP	X	X	X	X	X
Pendimethalin		X			
Phenmedipham		X			
Glyphosate		X			X
Terbutylazine		X		X	X
NPEO	X	X			X
PCP	X			X	X
DEHP	X			X	X
PCB 28	X			X	X
MTBE	X	X		X	X

[1][Ledin *et al.*, 2004] ; [2][Eriksson, 2002] ; [3][Ek *et al.*, 2004] ; [4][Sörme *et al.*, 2001]; [5][Wedepohl, 1995] (Based on concentrations > 100 ppb in the continental crust)

Dans le cadre de cette thèse, nous ne développerons pas l'ensemble de ces paramètres ni l'ensemble des sources de pollution des RUTP. Dans les paragraphes suivants, nous ne présenterons que quelques éléments d'information relatifs à certaines grandes familles de polluants qui sont souvent recherchés dans les RUTP ou les Eaux Pluviales Urbaines (EPU).

Pour les ordres de grandeurs des paramètres dosés dans ces types de rejets, nous avons présenté ceux figurant dans la synthèse qui avait été réalisée par Parent-Raoult [2004] (voir Tableau 3, paragraphe I.2.4, page 47).

I.2.11. Paramètres de base

Cette catégorie de paramètres regroupe des paramètres physico-chimiques qui sont habituellement dosés lors des campagnes expérimentales : pH, MES, DCO, DBO_5, N, P. Ces paramètres de base peuvent contribuer à mettre en évidence la possibilité que des problèmes d'eutrophisation, de diminution de l'oxygène dissous, d'érosion, etc. surviennent dans le milieu récepteur suite au déversement des RUTP [Eriksson *et al.*, 2007].

I.2.111. Le pH

Le pH joue un rôle important dans la spéciation des différents éléments chimiques présents dans un milieu ([Sigg *et al.*, 2006] ; [Eriksson *et al.*, 2007]) car la variation du pH modifie également la distribution des espèces chimiques en solution, notamment en ce qui concerne les métaux et l'ammonium, qui sont des polluants très présents dans les RUTP. Ce changement de spéciation peut conduire à observer des effets toxiques vis-à-vis des organismes du milieu récepteur [Eriksson *et al.*, 2007]. D'autres éléments d'information sont fournis sur la spéciation en milieu aquatique dans le paragraphe I.2.5.

Les gammes de pH mesurées dans les eaux pluviales sont comprises entre 5,5 et 9,3 ([Makepeace *et al.*, 1995] ; [Eriksson, 2002]) ; certaines pluies peuvent être très acides (pH < 4,5), ce qui augmente leur agressivité vis-à-vis des matériaux sur lesquels elles ruissellent [ENGEES/Veolia Water/Anjou Recherche, 2006] ainsi que la capacité de dissolution de ces rejets.

I.2.112. Matières En Suspension

Le terme « Matières En Suspension (MES) » caractérisent la fraction constituée par les particules de taille > 10 µm qui sont en suspension dans l'eau, à laquelle se rajoute également une partie des matières colloïdales constituées par des particules de dimension comprise entre 1 et 10^{-2} µm (voir **Figure 3**). Les MES représentent l'un des paramètres globaux de pollution les plus facilement perceptibles cependant, c'est l'un des plus difficilement mesurables en continu. La teneur et la composition minérale et organique des matières en suspension dans les eaux sont très variables selon les cours d'eau et sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, des travaux, des rejets, etc. [Rodier *et al.*, 1996] ; [Maréchal, 2000] ; [Rejsek, 2002b].

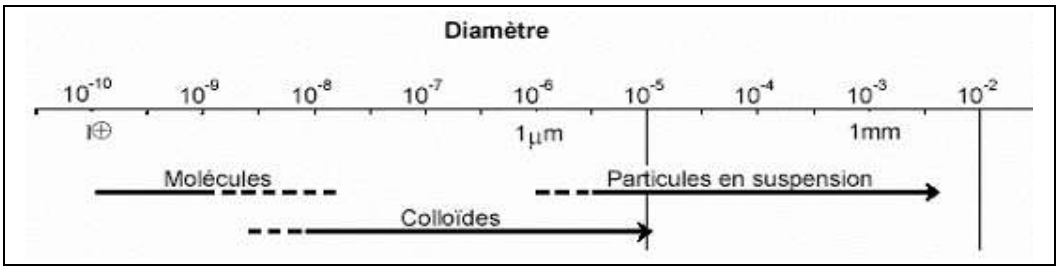


Figure 3 : **Taille des particules selon Sigg *et al.* [1992]**

Les MES interviennent dans la composition de l'eau par leurs effets d'échanges d'ions ou d'adsorption, aussi bien avec les éléments chimiques à l'état de traces que sur les micro-organismes. La taille des particules constituant les MES jouent un rôle important dans le transfert des polluants. En effet, il est rapporté dans la littérature que, plus les particules sont de petites tailles plus elles offrent une grande surface spécifique d'adsorption ; ce qui en fait un support idéal pour les ions, les molécules diverses et les agents biologiques. Il est également indiqué que les particules de taille < 2 mm sont celles qui classiquement concentrent les métaux [Rodier *et al.*, 1996] ; [Cauwenberg *et al.*, 1998] ; [Maréchal, 2000] ; [Isaure, 2001] ; [Ganaye, 2006]. De ce fait, ils peuvent constituer un vecteur pour la pénétration de ces produits dans l'organisme. Une fois absorbée, l'action des ces produits est alors fonction de leur libération éventuelle dans le transit alimentaire [Rodier *et al.*, 1996].

Plusieurs auteurs relatent dans la littérature que la pollution particulaire des RUTP est très importante (en masse annuelle, les RUTP rejettent de 5 à 10 fois plus de MES qu'une STEP) et que la distribution granulométrique des particules joue un rôle important en ce qui concerne leur aptitude à fixer les polluants et leur vitesse de décantation. Cette distribution granulométrique est généralement déterminée en passant l'échantillon au travers de tamis de taille décroissante et en pesant les particules retenues. Pour les particules les plus fines, elles peuvent être analysées par diffraction laser. De manière générale, plus de 70% des MES transportées dans les RUTP ont une taille < 100 µm (voir Tableau 2) [Verbanck *et al.*, 1990] ; [Chebbo, 1992] ; [Verbanck, 1992] ; [Durand, 2003] ; [Bertrand-Krajewski, 2006] ; [Larmet, 2007] ; [Chocat *et al.*, 2007] ; [Badin, 2009]. Il a également été démontré que : i) les particules > 100 µm sont légèrement plus importantes dans les réseaux unitaires ; ii) suite à des mesures avec et sans ultrasons, les particules < 100 µm ont une tendance à s'agglomérer entre elles [Chebbo, 1992] ; [Chocat *et al.*, 2007].

Tableau 2 : Caractéristiques granulométriques des particules contenues dans différents types de RUTP [Chebbo, 1992]

Origine	D10	D50	D90	d < 100 µm
Rejets de réseaux unitaires	3,5	34,3	332	75%
Rejets de réseaux séparatifs	4,4	35,1	611	81%
Tous réseaux	3,9	34,7	456	78%

Il est généralement admis que les teneurs supérieures à 10 mg de MES/L sont peu favorables pour les peuplements en Salmonidés [Nisbet et Verneaux, 1970] ; [Rodier *et al.*, 1996] ; [US EPA, 1999a]. De plus, des teneurs élevées en MES dans les cours d'eau peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous, réduire le stock de nourriture disponible, créer des déséquilibres entre les diverses espèces, … ; l'asphyxie des poissons, par colmatage des branchies, est souvent la conséquence d'une teneur élevée en MES. Les dépôts dans les zones calmes peuvent entraîner des développements anaérobies qui auraient de graves conséquences par la suite aussi bien sur la flore et la faune de la zone benthique [Rodier *et al.*, 1996] ; [Ellis *et al.*, 2004] et de la zone hyporhéique.

Plusieurs études soulignent également le rôle que les colloïdes (contenues dans les MES) peuvent jouer dans la migration, sur le long terme, de polluants à travers la zone non saturée vers la nappe phréatique. Ce processus est connu le nom de « transfert facilité par les colloïdes » [Kaplan *et al.*, 1995] ; [van der Lee, 1997] ; [Jensen et Christensen, 1999] ; [Denaix *et al.*, 2001] ; [Zimmermann *et al.*, 2004] ; [Ganaye, 2006].

I.2.113. Matières oxydables

Les matières oxydables correspondent à l'ensemble des composés organiques présents dans une eau tant sous la forme particulaire, colloïdale que dissoute. La nature de ces composés est extrêmement variée. Ils peuvent être d'origine naturelle, d'origine biologique récente, ou provenir d'activités humaines (matières organiques de synthèse) [Rejsek, 2002b].

La quantifiction de la concentration de ces composés organiques dans un échantillon d'eau permet d'apprécier l'importance de la pollution organique contenue dans cet échantillon. Le dosage de cette pollution organique repose essentiellement sur la mesure globale de la consommation en oxygène nécessaire à leur dégradation. Deux méthodes normalisées sont utilisées pour estimer cette pollution : la Demande Chimique en Oxygène (DCO) et la Demande Biologique ou Biochimique en Oxygène après 5 jours (DBO_5), généralement. La DCO permet d'estimer la quantité totale de matières organiques (biodégradables ou non) qui peut être dégradée par voie chimique (oxydation chimique) tandis que la DBO_5 permet d'estimer la fraction de ces composés organiques qui est biodégradable. Le rapport DCO/DBO_5, ou rapport de biodégradabilité, permet de connaître la possibilité de biodégradation d'un échantillon [Rejsek, 2002b]. Généralement, et en faisant abstraction de la grande variabilité des caractéristiques des RUTP sur la base des conditions déjà évoquées, ce rapport est plus élevé pour les RUTP (de 3,4 à 6,0 en réseaux unitaires ; 5,0 à 7,5 en réseaux séparatifs) que pour les eaux résiduaires urbaines (rapport = 2) ; ce qui traduit une moins bonne biodégradabilité de ces rejets. Pour les RUTP, ce rapport peut varier de 1 à 10 pour un même bassin-versant, en fonction des caractéristiques qui influencent la variabilité des RUTP (pluie, état du réseau, saison, …) [Bertrand-Krajewski, 2006].

I.2.114. Nutriments

Les nutriments (N et P) sont des éléments nutritifs nécessaires au développement et au maintien des organismes dans le milieu aquatique. Mais, la modification de leur stock dans les milieux aquatiques par des rejets d'origines diverses (industrielles, agricoles, urbaines) engendre des

dysfonctionnements d'ordre écologique dont le plus fréquent est la mise en place ou l'accélération d'un processus d'eutrophisation. Le phosphore constitue généralement le facteur limitant du cycle trophique, cependant l'azote peut aussi l'être dans certains cas [Heaney *et al.*, 1999] ; [Lee et Bang, 2000]. La prolifération des algues aura pour conséquence une consommation de l'oxygène présent dans l'eau et va rendre le milieu anoxique. Cela entraînera alors une dégradation de la qualité des milieux aquatiques, une diminution de la biodiversité et la mort des organismes aquatiques aérobies. L'estimation des nutriments se base sur la détermination des nitrates, de l'ammonium et des phosphates contenus dans le rejet. Si les nitrates et les phosphates ne présentent qu'une faible toxicité aiguë pour la vie aquatique, l'ammoniaque (sous forme ionisée et non ionisée) peut présenter un danger important [Ankley *et al.*, 1990] ; [Frazier *et al.*, 1996] ; [Carpentier *et al.*, 2002] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Cauzzi, 2007] ; [Le Coustumer, 2008].

Le phosphore (P) est l'un des éléments principaux pour la croissance des plantes et des algues. Il est transformé en matière végétale par la photosynthèse. Il est produit naturellement dans les roches et est excrété par les consommateurs primaires. Il est également un additif important dans les produits détergents. Le phosphore minéral n'est pas immédiatement biodisponible pour les plantes tandis que le phosphore inorganique est rapidement minéralisée par des bactéries le rendant ainsi facilement biodisponible pour les algues, sous la forme de phosphates et d'orthophosphates [Ellis *et al.*, 2004] ; [Le Coustumer, 2008].

L'azote (N) est également indispensable pour la croissance des végétales. Il se dissout aisément dans les systèmes aquatiques et se convertit alors en formes aqueuses (ion nitrate (NO_3^-), ammonium (NH_4^+) ou ammoniac (NH_3) selon le pH, ion nitrite (NO_2^-)). Ce sont ces éléments qui ont le plus grand impact sur les milieux aquatiques car ils sont directement disponibles et assimilables par les organismes simples et vont conduire à l'hypereutrophisation. Bien que les proportions soient variables, la répartition moyenne des concentrations est la suivante : environ 10% de NH_3^+, environ 40% de NO_x, environ 30% de $N_{org.}$ dissous et environ 20% de $N_{org.}$ particulaire. Cette répartition a des conséquences importantes sur les mécanismes à mettre en œuvre pour le traitement de l'azote. En effet, seulement 20% de l'azote se présente sous forme particulaire, les mécanismes de décantation seront donc peu efficaces pour le traitement de l'azote [Ellis *et al.*, 2004] ; [Le Coustumer, 2008].

I.2.12. Micropolluants minéraux

Les micropolluants minéraux couramment désignés dans la littérature sous le vocable de « métaux lourds » concernent une grande variété d'éléments, non nécessairement métalliques, susceptibles de dégradés les environnements aquatiques en raison de leur présence dans la phase dissoute ou en association avec les substances particulaires avant ou après décantation. On retrouve dans ce groupe : l'arsenic, le bérillyum, le cadmium, le chrome, le cobalt, le cuivre, le germanium, le manganèse, le molybdène, le nickel, plomb, le vanadium et le zinc [Ellis *et al.*, 2004].

Les métaux sont présents dans tous les compartiments de l'environnement mais, en général, en quantité très faible (en traces). Néanmoins, des concentrations importantes peuvent être mesurées dans certains sites, tout particulièrement autour des massifs granitiques. Les activités anthropiques

peuvent également conduire à une augmentation des concentrations naturelles rencontrées dans l'environnement [INERIS, 2004].

Les métaux constituent un groupe de substances chimiques particulier en raison de : leur présence ubiquitaire à la surface du globe ; le caractère essentiel de certains métaux pour les organismes vivants ; et, des phénomènes d'acclimatation, de sélection et d'adaptation. Cependant, certains de ces « métaux lourds » sont connus pour être toxiques pour l'organisme quand ils sont présents en grande quantité (après assimilitation ils ne s'éliminent pas facilement). Ils sont bioaccumulables dans les organismes vivants, avec une augmentation continue des concentrations lorsque l'on progresse dans la chaîne alimentaire [Ellis *et al.*, 2004] ; [INERIS, 2004].

Dans les milieux aqueux, on peut mesurer différente fraction des métaux : i) la fraction totale[1] ; ii) le métal particulaire[2] ; iii) le métal dissous[3]. On peut également doser (au moyen de techniques spéciales) la quantité de métal « libre », qui correspond à la forme ionisée du métal ; cette espèce appartient à la fraction métallique dissoute [INERIS, 2004].

Les micropolluants minéraux rencontrés dans les RUTP sont très nombreux et bien documentés dans la littérature [Ellis, 1991] ; [Chocat, 1997] ; [Gromaire-Mertz, 1998] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Durand, 2003] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Bertrand-Krajewski, 2006] ; [Chocat *et al.*, 2007]. Les plus généralement dosés dans les RUTP, les EPU, ou les eaux de ruissellement (de parking, routier, ..) sont : le cadmium, le cuivre, le plomb et le zinc, en raison de leur ubiquité dans les zones urbanisées, indépendamment de toute activité industrielle spécifique. Dans le cadre de cette étude nous nous limiterons à la présentation de ces 4 métaux. Nous ne présenterons que certaines généralités sur ces derniers dans cette synthèse bibliographique, car ils font l'objet d'une présentation plus détaillée dans le paragraphe I.1 de la partie « Matériels et Méthodes ». En ce qui concerne les eaux pluviales, et les RUTP, la littérature relate [Chebbo, 1992] ; [US EPA, 1999a] ; [Legret et Pagotto, 1999] ; [Maréchal, 2000] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Chocat *et al.*, 2007] :

Cadmium : l'essentiel du cadmium se trouve dans la phase dissoute et, seule la fraction organique et la fraction échangeable se retrouvent dans la phase solide. Pendant son transfert dans le réseau de transport, on estime que seul 30 à 40% du cadmium est effectivement sous une forme très facilement biodisponible lors du rejet.

Cuivre : le cuivre est également distribué entre les phases particulaire et dissoute dans des eaux urbaines. La part fixée sur les MES augmente au fur et à mesure que l'on progresse dans le système d'assainissement, depuis l'amont vers l'aval. Le cuivre présente une affinité avec les molécules organiques, et certains chélateurs organiques tels que les acides humiques jouent un rôle favorable dans la réduction de la toxicité du cuivre présent dans les sédiments, probablement en diminuant la concentration ionique en cuivre hydraté. Les concentrations moyennes événementielles pour le cuivre total dans les eaux de ruissellement urbains peuvent aller jusqu'à 450 mg/L.

[1] Fraction totale : quantité totale de métal, sous toutes ses formes, incluant le métal particulaire et le métal dissous.

[2] Métal particulaire : métal fixé sur des particules retenues par un filtre de 0,45 µm.

[3] Métal dissous : métal en solution qui n'est pas retenu par un filtre de 0,45 µm.

Plomb : Les concentrations moyennes événementielles pour le plomb total dans les eaux de ruissellement urbain des zones résidentielles sont de l'ordre de 200 µg/L (valeurs moyennes observées comprises entre 90 et 440 µg/L). La concentration en plomb dans la phase liquide est généralement assez faible, du fait de la tendance de ce métal à coprécipiter et à s'adsorber sur les particules solides. On estime qu'en réseau unitaire, 80 à 98% du plomb des rejets pluvieux urbains seraient associés aux MES. Une fois que le plomb particulaire est incorporé dans les sédiments de milieux récepteurs, il peut également évoluer chimiquement ou biologiquement pour former des composés organométalliques potentiellement biodisponibles et toxiques pour les organismes aquatiques.

Zinc : il est généralement présent en quantité importante dans les RUTP. Les automobiles constituent la source principale de zinc dans l'environnement urbain avec des taux moyens de dépôt de l'ordre de 3 mg/véhicule-km. Son origine est multiple : pneux, huiles de moteur, garnitures de frein, systèmes d'échappement, carrosseries corrodées. Les concentrations moyennes événementielles observées pour le zinc total dans les eaux de ruissellement urbain sont fortement variables, avec des niveaux pouvant atteindre 5,2 mg/L. Les valeurs usuelles sont cependant plutôt de l'ordre de 500 µg/L après une période de temps sec antécédante normale. La distribution du zinc entre les phases dissoute et particulaire dans les eaux de ruissellement dépend des conditions physico-chimiques mais la phase soluble est normalement prédominante (50 à 70%). Si l'alcalinité et le pH décroissent, l'ion hydraté libre Zn^{2+} devient de plus en plus dominant et peut représenter jusqu'à 90% de la concentration totale.

I.2.13. Micropolluants organiques

La gamme des contaminants organiques introduits dans les milieux aquatiques par des processus naturels ou liés, très majoritairement, aux activités anthropiques, est très vaste. Ces derniers, également dénommés microPolluants Organiques Hydrophobes (POH), font référence à certains groupes de molécules bien connus pour leur toxicité comme les PolyChloroBiphényles (PCB), les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les pesticides organochlorés (DDT, atrazine), les dioxines, … Cet ensemble, bien que très divers, possède des caractéristiques chimiques communes (hydrophobie[4], solubilité, persistance[5]) qui leur confèrent des « traits de comportement » similaires dans l'environnement. Leur faible solubilité et leur hydrophobie (généralement assez élevée) conduisent ces molécules à se fixer préférentiellement sur les particules du milieu (sols et sédiments). La grande diversité des sources de production et la quantité importante de

[4] Les composés hydrophobes sont facilement solubles dans certains solvants non-polaires, mais difficilement solubles dans l'eau [Sigg *et al.*, 1992]. L'hydrophobie d'une molécule organique est quantifiée au moyen de son coefficient de partage entre l'octanol et l'eau (K_{OW}) qui est le rapport des concentrations du composé à saturation dans le n-octanol et dans l'eau. K_{OW} permet également une estimation du caractère lipophile du contaminant [Schwarzenbach *et al.*, 1993] ; [Gourlay, 2004].

[5] La persistance d'une molécule dans un environnement désigne sa capacité à ne pas être dégradée soit par la voie bactérienne, chimique, voire photo-chimique, ou encore par leur métabolisation dans les organismes contaminés [Gourlay, 2004].

contaminants hydrophobes libérés par les activités humaines, confèrent un caractère ubiquiste à la distribution de ces composés dans l'environnement. A ce titre, 16 de ces composés ont été décrits comme étant des polluants prioritaires des milieux aquatiques par l'US EPA [Calow, 1993] ; [AERMC, 2002] ; [Gourlay, 2004] ; [Cauzzi, 2007]. Quelques indications sont présentées ci-dessous pour certains représentants du groupe de micropolluants organiques [AERMC, 2002] :

PCB (PolyChloroBiphényles) : ce sont des composés chlorés très stables (résistants au feu et non biodégradables). Ils étaient utilisés dans les transformateurs électriques comme isolants. Ils entraient également dans la composition de vernis, encres, peintures, solvants, ... Leur combustion peut générer des dioxines et des furanes, substances cancérigènes et mutagènes. Ils s'accumulent donc dans le milieu naturel et se bioaccumulent fortement dans la chaîne alimentaire (par exemple dans la graisse des poissons). Du fait de leur importante persistance dans le milieu et de leur forte aptitude à la bioaccumulation, ils font l'objet de restrictions d'usage importantes (utilisations limitées par l'arrêté du 8 juillet 1975). De plus, le décret du 02/02/87 interdit la mise sur le marché des appareils contenant des PCB.

HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) : ce sont des composés issus de la combustion incomplète des produits pétroliers : activités urbaines (chauffage), industrielles et de transports (gaz d'échappement des véhicules). Dans les eaux de ruissellement, les concentrations moyennes en HAP sont de 0,2 à 1,5 µg/L dans les zones urbaines et peuvent atteindre 7 µg/L aux abords des routes et des autoroutes (données Lyonnaise des Eaux). Ils se bioaccumulent dans les graisses, notamment des poissons et des mollusques. Nombre d'entre eux (notamment le benzo(a)pyrène) sont reconnus cancérigènes. Les HAP sont classés « substances dangereuses prioritaires » par la Directive Cadre de l'Eau (DCE) [AERMC, 2002]. En France, les six HAP recherchés dans les milieux aquatiques sont : le fluoranthène, le benzo[a]pyrène, le benzo[k]fluoranthène, le benzo[g,h,i]pérylène et l'indéno[1,2,3-c,d]pyrène [Gourlay, 2004].

Pesticides : appelés également « produits phyto-sanitaires », sont des substances chimiques minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures, les animaux nuisibles et les vecteurs d'affections parasitaires ou microbiologiques de l'homme et des animaux domestiques [Ramade, 2002]. On distingue notamment : des *insecticides* utilisés contre les insectes nuisibles ; des *fongicides* utilisés contre les champignons phytopathogènes ; des *herbicides* qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable. Ils sont également utilisés pour le traitement du bois et de l'habitat. Les substances chimiques sont très diverses comme des composés minéraux (soufre, sulfate de cuivre), des molécules organiques de synthèse (carbamates, urées substituées, triazines, organophosphorés, …) mais aussi des molécules organiques naturelles (nicotine, pyréthrine). On dénombre 8 800 spécialités commerciales dans la composition desquelles entrent plus de 900 matières actives. Certaines de ces substances sont classées prioritaires en examen par la DCE et d'autres (atrazine, simazine, par exemple) sont interdites d'utilisation.

Plusieurs de ces micropolluants sont présents dans les RUTP et plusieurs études ont été réalisés sur ces derniers notamment sur les hydrocarbures, les HAP ([US EPA, 1999a] ; [Krein et Schorer, 2000] ; [Rocher *et al.*, 2004] ; [Gourlay, 2004] ; [Neff *et al.*, 2005] ; [Tang *et al.*, 2005] ; [Brown et Peake,

2006] (ou les pesticides, notamment en écotoxicologie : PAN Pesticides Database, AGRITOX, EXTOXNET). Cependant, les mesures sont peu nombreuses dans la littérature pour certains autres micropolluants organiques présents dans les RUTP.

I.2.14. Micro-organismes

Des travaux réalisés sur les RUTP ont montré que ces rejets contiennent différents contaminants microbiens (micro-organismes) qui sont introduits dans les milieux récepteurs suite au déversement de ces rejets. Ces micro-organismes (bactéries, microbes pathogènes ou virus) proviennent de différentes sources : eaux usées urbaines, déjections animales, urines, les débris végétaux, …. Les rejets issus de réseaux unitaires et de déversoirs d'orage présentent généralement les plus importantes concentrations de contaminants microbiens. Les concentrations de ces contaminants sont variables selon les saisons, avec un maximum très marqué à l'été et à l'automne (leur croissance étant fonction de la température). Les micro-organismes contenus dans les RUTP peuvent donc altérer la qualité des milieux récepteurs, les rendant inaptes à certaines activités (baignade, par exemple). Ils peuvent également être à l'origine d'infections communautaires (dermatite, otite, pneumopathies, leptospiroses, etc.) et d'épidémies déclarées dans le cadre de diverses activités nautiques [Aalderink *et al.*, 1990] ; [US EPA, 1999a] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Bertrand-Krajewski, 2006] ; [Chocat *et al.*, 2007] ; [Cournoyer, 2009].

I.2.2. Répartition de la pollution des RUTP : phase dissoute et phase particulaire - granulométrie

Il est généralement admis que la séparation entre les phases particulaire et dissoute s'opère à 0,45 µm. Sur la base de cette coupure, plusieurs études menées sur les RUTP ont permis d'observer que la majorité des polluants contenus dans ces rejets est présente dans la phase particulaire. Quelques exemples ont été cités dans les paragraphes précédents, notamment en ce qui concerne les métaux, les HAP, … Compte tenu de l'importance de la fraction particulaire des RUTP, d'autres études ont été consacrées à plusieurs aspects de cette pollution : granulométrie, teneur en matière organique, …. A partir des résultats de ces études, il apparaît que les particules les plus fines véhiculent la plus grande fraction des flux polluants, principalement en ce qui concerne les micropolluants minéraux et organiques [Chocat *et al.*, 2007] et que pour les métaux, environ 70% de ces derniers sont fixés sur les particules < 100 µm [Ellis et Revitt, 1982] ; [Bertrand-Krajewski, 2006].

I.2.3. Le concept de « premier flot »

Le concept de « premier flot » (« first flush ») traduit l'hypothèse selon laquelle les premiers volumes déversés contiennent la majeure partie de la charge polluante transportée lors d'un événement pluvieux. Beaucoup d'attention ont été apportées à ceconcept durant ces dernières années en raison de l'importance d'assumer cette hypothèse en ce qui concerne le dimensionnement des ouvrages de stockage ou de traitement de ces rejets. Suite aux différents travaux de recherche réalisés sur ce concept de « premier flot », il en ressort que ce dernier constitue un phénomène complexe et surtout spécifique au site étudié. Mais ce phénomène mérite quand même d'être étudié, surtout en ce qui concerne l'aspect écotoxicologique vis-à-vis des organismes des milieux

récepteurs qui peuvent se retrouver exposer à une fraction importante de ce premier volume de rejet. D'ailleurs, certains auteurs ont mis en évidence certains effets néfastes corrélés avec la période au cours de laquelle le prélèvement à été réalisé pour l'événement pluvieux concerné. Ces résultats sont présentés dans le paragraphe consacré aux caractéristiques écotoxicologiques des RUTP (paragraphe I.2.6) [Gupta et Saul, 1996] ; [Chocat, 1997] ; [Parent-Raoult, 2004] ; [ENGEES/Veolia Water/Anjou Recherche, 2006] ; [Parent-Raoult et Boisson, 2007] ; [Chocat *et al.*, 2007].

I.2.4. Synthèse sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des RUTP

Le Tableau 3 (tiré de [Parent-Raoult, 2004]) fournit, à titre indicatif, quelques gammes de variations (minima-maxima) de concentrations en divers éléments rencontrés dans la littérature pour les rejets par temps de pluie provenant de différents systèmes d'assainissement. Ces ordres de grandeur permettent de constater la **grande variabilité des rejets** qui dépend de différents facteurs (le site, la pluviométrie, la durée de la pluie, le type de réseau, l'urbanisme, …). Ce qui est d'ailleurs confirmé par plusieurs auteurs dans la littérature existante ([US EPA, 1999a] ; [Parent-Raoult, 2004] ; [Chocat *et al.*, 2007] ; …). D'autres études montrent par ailleurs que cette variabilité des concentrations en polluants est également très élevée à l'échelle intra-évenementielle.

Tableau 3 : Gammes de concentrations rencontrées dans la littérature, dans des rejets pluviaux urbains bruts de diverses origines ((np) : non précisé ; (a) déversoirs d'orage en réseau unitaire ; (b) en réseau séparatif, (c) eaux de ruissellement autoroutières ; (d) divers : parkings, chaussées, etc.) [Parent-Raoult, 2004]

Référence / Paramètre	House *et al.*, 1993 (revue) (a)	House *et al.*, 1993 (revue) (b)	Pitt *et al.*, 1995 (d)	Barbosa & Hvitved Jacobsen, 1999 (c)	Lee & Bang, 2000 (a)	Lee & Bang, 2000 (b)	Chebbo *et al.*, 2001 (a)	Chebbo *et al.*, 2001 (a)	Egan-house & Sherblom 2001 (a)	Diaz-Fierros *et al.*, 2002 (a)	Rossi *et al.*, 2003 (b)
nombre d'échantillons	np	np	60	73-123	np	np	60	20	5	63	58
pH			4.4-12.0	5.9-7.2						6.1-10.0	
O_2 (mg/l)										1.2-7.6	
conductivité (µS/cm)				9-184						130-717	
dureté ($mgCaCO_3/l$)				1.5-67.0							
MES (mg/l)	176-647	21-2582	0-0.45	<8-147	13-2796	3-438	110-510		18-53	19-938	
DCO (mg/l)	250-530	20-365			21-1455	10-810	200-640			88-1073	
DBO5 (mg/l)	43-225	7-22			12-254	6-324	80-260			10-450	
COT (mg/l)									0.8-11.3		
N total (mg/l)	2.1-28.5	0.4-20.0							1.3-1.6		
NH_4-N (mg/l)	3.1-8.0	0.2-4.6								1.5-32	
NO_3-N (mg/l)					0.01-4.3	0.01-5.4					
NTK (mg/l)					0.1-35	0.4-47				5.5-91	
P total (mg/l)	6.5-14.0	0.02-4.3			2.4-22.4	0.1-10.0				0.35-15.1	
PO_4-P (mg/l)					0.9-21.0	0.1-7.0					
Ca (mg/l)										12.1-20.2	
Na (mg/l)										15.5-82.1	
Fe (mg/l)					0.1-23						
MO totale extractible (mg/l)									4-31		
hydrocarbures totaux (mg/l)									0.2-6.0		
alkylbenzènes linéaires (µg/l)									0.09-2.3		
PCB (µg/l)									0.09-0.73		0.005-0.09
pesticides (chlordane) (µg/l)			0.9-2.9								
Al (µg/l)			25-71300								
Cr (µg/l)			2.4-510								
Ni (µg/l)			1.2-170								
Cd (µg/l)			0.1-220					0.6-3.4			
Cu (µg/l)			1-1830	<1-54				50-210			
Zn (µg/l)	100-1070	10-3680	4-13100	<50-1462				1000-1300		27-106	
Pb (µg/l)	80-450	10-3100	1-330	<1-199	2-890	4-494		100-130		<0.1-18	
n-Hexane (mg/l)					2-1965	1-451					
coliformes fécaux ($NPP*100ml^{-1}$)	10^5-10^8	400-5.10^4									

Il ressort également de cette synthèse bibliographique, que **la majorité des polluants contenus dans les RUTP est présente dans la phase particulaire**. Même si les ordres de grandeur varient en fonction des caractéristiques des RUTP, les conclusions des études réalisées tendent généralement vers cette même observation.

I.2.5. Spéciation en milieux aqueux

La spéciation fait référence à la distinction entre les différentes formes chimiques possibles (espèces) d'un élément. Ainsi, on distingue : les espèces dissoutes, et les espèces liées en phase solide ; les complexes formés avec différents ligands en solution, et les complexes formés entre différents états d'oxydo-réduction [Sigg *et al.*, 2006]. Pour connaître cette distribution entre les différentes phases, deux grandes approches peuvent être adoptées : les mesures analytiques ou l'utilisation de modèles de spéciation.

La deuxième approche est la plus utilisée des deux, car la méthode analytique directe ne peut être employée que pour quelques rares cas, ce qui rend particulièrement difficile la détermination analytique des ions aqueux libres par cette méthode.

En ce qui concerne les modèles de spéciation, ils permettent de calculer les parts relatives (ou concentrations probables) des différentes formes chimiques présentes dans différentes phases (dissoute, adsorbée, solide ou gazeuse) dans un système donné. Les calculs peuvent être réalisés pour des systèmes aqueux naturels ou reconstitués en laboratoire, sous l'hypothèse qu'ils soient à l'équilibre. Les données indispensables à la modélisation sont, en général, des concentrations totales dissoutes des différentes espèces (métaux étudiés, ions majeurs, …) ainsi que d'autres données caractérisant le milieu d'étude comme le pH, le pe (potentiel rédox) ou encore la présence de composés solides pouvant se solubiliser avant qu'un équilibre ne soit atteint. De nombreux exemples de ces modèles sont disponibles dans la littérature et plusieurs programmes informatiques sont mis à la disposition des utilisateurs. Parmi les modèles les plus couramment utilisés, on peut citer MINEQL+, MINTEQA2, CHESS ou encore PHREEQC [INERIS, 2004] ; [Casas, 2005] ; [Sigg *et al.*, 2006].

La spéciation est importante pour connaître les formes les plus biodisponibles pour les organismes, notamment en ce qui concerne les métaux, car l'interaction entre les organismes vivants et le métal dépend entre autres de la forme sous laquelle ce dernier se trouve dans le milieu. En d'autres termes, elle contrôle la toxicité du métal et son assimilation par les organismes [INERIS, 2004] ; [Casas, 2005] ; [Sigg *et al.*, 2006] ; [Eriksson *et al.*, 2007].

Les codes de calculs ne permettent, certes, de connaître que les concentrations probables des différentes espèces en solution, mais ils demeurent cependant des outils importants avec lesquels il est possible d'approcher le devenir des métaux traces dans un système donné.

I.2.6. Caractéristiques écotoxicologiques des RUTP

Très peu de données existent dans la littérature sur les études portant sur la caractérisation écotoxicologique des RUTP. Ces études constituent pourtant l'un des moyens d'évaluer les impacts des RUTP sur les organismes des milieux récepteurs. Généralement, elles sont menées en vue d'estimer la part de la toxicité intrinsèque des RUTP qui est responsable des effets observés dans les milieux récepteurs, indépendamment des effets liés à la dégradation physique du milieu concerné, ou à la complexité des systèmes naturels.

Ces dernières sont le plus souvent conduites en laboratoire suivant deux approches : soit en exposant les organismes à un RUTP synthétisé, soit au moyen de RUTP prélevés sur le site d'étude et ramenés en laboratoire pour la conduite d'essais d'écotoxicité (*Whole Effluent Toxicity testing - WET*). Ces essais peuvent être réalisés au moyen d'un organisme ou avec une sélection d'organismes qui seront exposés à l'échantillon testé. Le principe général de ces essais est décrit de manière détaillée dans la deuxième section de cette synthèse bibliographique.

En ce qui concerne les résultats obtenus à l'issu des études en laboratoire recensées, ils sont assez souvent variables, selon les espèces utilisées et leur milieu de vie (marin ou eau douce), les caractéristiques de l'échantillon testé, …. En rapport à la problématique qui concerne cette étude (RUTP déversés dans les cours d'eau), nous priorisons les données d'écotoxicité vis-à-vis d'organismes d'eau douce.

L'une des principales études retrouvées dans la littérature est celle de Marsalek *et al.* [1999] où ils ont testés plusieurs variantes au moyen d'une batterie de huit[6] bioessais (réseau unitaire/réseau séparatif ; plusieurs prélèvements dans le temps ; mélanges d'échantillons ; sédiments). Les conclusions de cette étude indiquent que les RUTP en réseau unitaire sont moins toxiques que les rejets d'eaux pluviales des réseaux séparatifs en émettant également des commentaires sur l'origine des échantillons et les caractéristiques des sites d'études qui peuvent constituer des éléments permettant de comprendre ces résultats. Ils ont également souligné l'intérêt de tester ces types d'échantillons au moyen d'une batterie de bioessais afin d'avoir une meilleure appréciation de l'écotoxicité intrinsèque de ces derniers.

Schiff *et al.* [2002] ont également conduit une étude qui a révélé une toxicité des eaux pluviales urbaines vis-à-vis de la survie de *Ceridodaphnia dubia* comprise entre 35% et 82% d'échantillon [Parent-Raoult et Boisson, 2007]. D'autres études ont mis en évidence des effets toxiques qui seraient plus importants, vis-à-vis des organismes tests, pour des échantillons provenant d'un bassin-versant plus urbanisé par rapport à un autre qui l'est moins. D'autres auteurs ont mis en évidence, en utilisant l'approche laboratoire, des effets toxiques qui se sont révélés plus importants pour des échantillons prélevés au début des événements pluvieux suivis, en deça de 30 min ([Marsalek *et al.*, 1999]) comparativement aux effets observés pour des échantillons prélevés 2h après le début de l'événement pluvieux ([Gersberg *et al.*, 2003]). Des études ont également été réalisées au moyen de canaux artificiels qui ont montré l'influence des facteurs « débit » et/ou « habitat » sur la réponse des organismes utilisés [Borchardt et Sperling, 1997] ; [Parent-Raoult, 2004] ; [Parent-Raoult et Boisson, 2007].

Certaines études ont été menées en associant approche terrain et approche laboratoire. Les résultats conduisent dans certains cas, à des conclusions cohérentes entre ces deux approches [Bascombe *et al.*, 1990], tandis que d'autres démontrent que l'on peut aboutir à des résultats différents [Rochfort *et al.*, 2000].

[6] Cinq essais sur les échantillons liquides (*Daphnia magna* 48 h ; Microtox ™ 15 min, Sub-mitochondrial Particle bioassays reverse electron transport (SMP-RET) et foward electron transport (SMP-CET), SOS-chromotest) ; et trois essais sur les sédiments (Microtox ™ Solid Phase -20 min, SOS-Chromotest sur sédiment, *Panagrellus redivivus*-nematode-test).

Il ressort de l'ensemble de ces données, que les caractéristiques écotoxicologiques des RUTP varient selon les études réalisées et plusieurs facteurs peuvent être à la base de cette variabilité, dont : la nature des bassins-versants étudiés, la durée de l'événement qui a donné lieu au prélèvement, les caractéristiques des échantillons étudiés, les périodes et les techniques de prélèvement, les protocoles de préparation des échantillons, les organismes tests utilisés et la nature des effets toxiques mis en évidence, …

I.3. CONTRIBUTION DES RUTP AUX PROBLEMES D'IMPACT SUR L'ECOSYSTEME AQUATIQUE

I.3.1. Notion d'impact et typologie

La notion d'impact des rejets sur les milieux récepteurs fait référence à l'ensemble des conséquences, directes ou indirectes, de ces rejets sur : (i) le milieu naturel (le biotope), (ii) les espèces végétales et animales qui y vivent ou en dépendent (la biocénose), (iii) les activités qui y sont pratiqués ou qui l'utilisent (les usages). Le terme d'« impact » recouvre différents phénomènes, dépendant eux-mêmes d'un grand nombre d'éléments : diversité des sources de polluants, des polluants eux-mêmes, des interactions physiques, chimiques et biologiques entre les différents paramètres et enfin de la diversité des perceptions de la qualité du milieu récepteur. L'impact d'un rejet particulier peut être défini comme la part spécifique de responsabilité de ce rejet dans la modification, la dégradation du milieu. Une façon simple de définir l'impact d'un rejet sur un milieu consite à mesurer la différence entre l'état du milieu perturbé par le rejet et l'état hypothétique du milieu en l'absence du rejet . Cet état hypothétique peut être soit l'état du milieu à l'amont du rejet, soit l'état du milieu avant le rejet, ou encore un état théorique [House *et al.*, 1993] ; [Chocat, 1997].

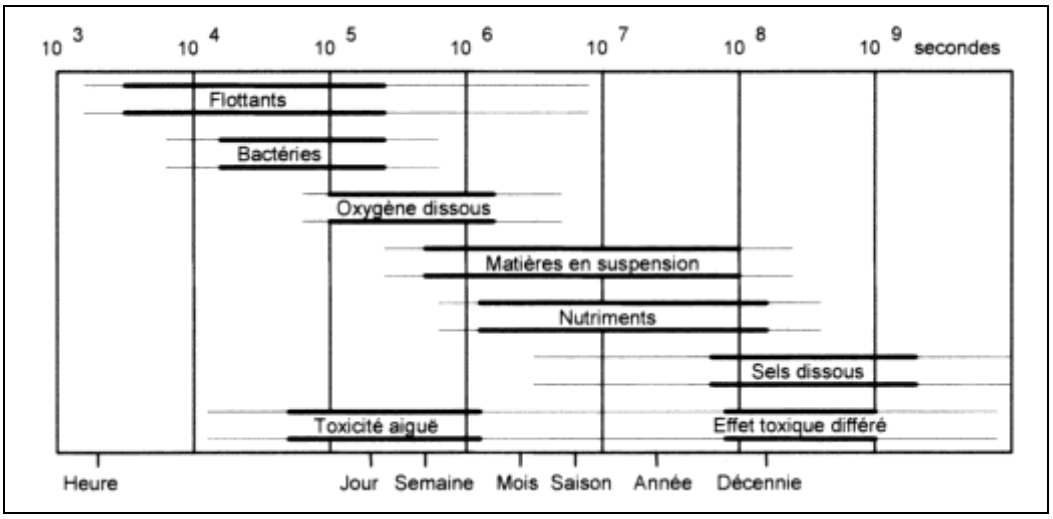
Les types d'impacts peuvent être distingués selon leurs dynamiques en [House *et al.*, 1993] ; [Chocat, 1997] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Parent-Raoult et Boisson, 2007] :

- effets de choc : ce sont les effets immédiats ou à court terme. Ils sont caractérisés par une dégradation momentanée du milieu ;
- effets cumulatifs : ce sont des effets différés qui peuvent être liés soit à des polluants dont l'effet est durable soit à l'accumulation de polluants au sein d'une matrice qui les relargue progressivement par la suite ;
- effets chroniques : ils sont caractérisés par la non récupération des populations animales et végétales entre deux dégradations successives de la qualité du milieu récepteur.

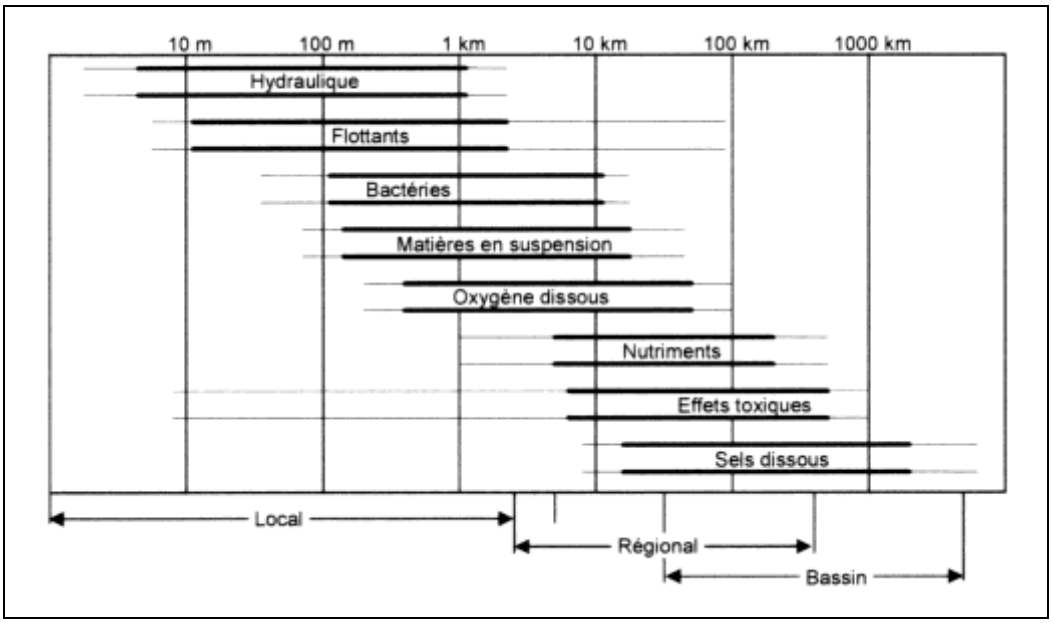
Les phénomènes d'impact dépendent de la dynamique des rejets. La sévérité de ces phénomènes est fonction de la réaction du milieu ; l'état à l'amont des rejets, la capacité d'autoépuration et la sensibilité particulière des usages pratiqués ou souhaités sur le milieu sont des éléments intervenant dans les phénomènes d'impact et déterminants pour juger leur gravité. Il est également important de signaler que tous ces effets ne se manifestent pas uniquement à l'aval immédiat des points de rejet, puisque les produits rejetés sont susceptibles d'être transportés et dispersés par le courant (cas des rivières, par exemple), à l'échelle du bassin-versant [House *et al.*, 1993].

I.3.2. Impact des RUTP sur les milieux aquatiques

Les RUTP, tout comme les Rejets Urbains de Temps Sec[7], apportent des éléments dans des proportions variables mais leurs dynamiques sont différentes. Les RUTP sont événementiels et peuvent parfois être très violents, pouvant de ce fait provoquer des effets de choc [Chocat, 1997]. Ils peuvent également être responsables d'effets chroniques et cumulatifs. Les travaux de Driscoll et Mancini [1979], Aalderink et Lijklema [1985] et Trabuc [1989], repris dans Chocat [1997], présentent une synthèse en ce qui concerne les échelles de temps et d'espace relatives à l'impact des rejets urbains (**Figure 4**).



Echelle de temps



Echelle d'espace

Figure 4 : **Echelles de temps et d'espace relatives à l'impact des rejets urbains (tirées de [Chocat, 1997])**

[7] Les Rejets Urbains de Temps Sec sont constitués essentiellement d'eaux usées, généralement épurées [Chocat, 1997].

Les RUTP peuvent avoir plusieurs effets sur les milieux récepteurs, dont certains sur :

- les composantes physico-chimiques des milieux récepteurs : changement du régime hydraulique du cours d'eau récepteur, érosion des berges, remise en suspension des sédiments et particules décantées, apport en MES et de divers micropolluants, apport d'eaux ayant de très faibles concentrations en oxygène dissous, de matières organiques biodégradables, de quantité importante de nutriments, induire des phénomènes d'envasement, de colmatage … [House *et al.*, 1993] ; [Mulliss *et al.*, 1994] ; [Pitt *et al.*, 1995] ; [Mulliss *et al.*, 1997] ; [Seidl *et al.*, 1998a] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ;
- les biocénoses : accumulation des polluants dans les chaînes alimentaires ; des effets écotoxiques (voir paragraphe I.2.6) ; des effets génotoxiques ; perte de biodiversité [Mulliss *et al.*, 1994] ; [Marsalek *et al.*, 1999] ; [Schiff *et al.*, 2002] ; [Marsalek *et al.*, 2005] ; [Chocat *et al.*, 2007] ;
- l'usage des milieux récepteurs en raison de l'apport de contaminants microbiens, de problèmes esthétiques suite à l'augmentation de la turbidité, apport de solides flottants ;
- etc.

I.4. ETAT DES LIEUX EN MATIERE DE GESTION DES RUTP

I.4.1. Les approches et techniques utilisées dans les Pays Développés

I.4.11. Contexte international

La conception de l'assainissement moderne remontent au XIXème siècle dans les pays occidentaux et notamment en Europe. Elle correspond au développement du mouvement hygiéniste qui reposait sur le principe de l'évacuation des eaux le plus rapidement et le plus loin possible pour s'affranchir des risques sanitaires qu'elles véhiculent. Cela a abouti à la construction de réseaux d'égoûts unitaires pour collecter les eaux usées et les eaux pluviales, tout en assurant une protection contre les inondations [Agences de l'Eau et STU, 1994]. Après la seconde guerre mondiale, le développement urbain important et l'accroissement démographique ont eu pour conséquence une augmentation de l'imperméabilisation aussi bien en centre ville qu'à leur périphérie, se manifestant par des inondations et une détérioration de la qualité des milieux naturels à l'aval des réseaux. Ce qui a conduit au développement de réseaux séparatifs en amont des villes tout en conservant les systèmes unitaires existants. Des déversoirs d'orage dont l'une des fonctions principales est de déverser directement, lors de fortes pluie, le débit excédentaire du mélange d'eaux usées et d'eaux pluviales dans le milieu récepteur étaient également installés le long des réseaux. Ce qui a été constaté suite à la prise de ces décisions, c'est que ce type de gestion n'avait pas résolu le problème des impacts de l'assainissement sur les milieux aquatiques car il a été observé une dégradation des milieux aquatiques situés à l'exutoire des ces réseaux [Agences de l'Eau et STU, 1994] ; [Le Coustumer, 2008]. Ce qui a conduit à la remise en cause des techniques traditionnelles utilisées en matière de gestion des rejets liquides.

Dans les années de 1960, plusieurs études ont été menées, aux Etats-Unis notamment, sur les RUTP en vue d'identifier le problème en procédant à l'évaluation des ordres de grandeur de concentrations

et de flux de polluants. Les résultats issus de ces études ont mis en évidence la nécessité d'adopter d'autres approches de gestion de ces rejets. Ce qui a conduit à de nouvelles propositions formulées par l'US EPA dès le début des années 1970. Les scientifiques de l'US EPA ont continué à travailler sur la problématique jusqu'à publier un rapport en 1999, intitulé « *Preliminary data summary of Urban Storm Water Best Management Practices* ». Entre la trentaine d'années qui sépare les premières études de la publication de ce rapport, d'autres pays se sont également mis à réfléchir sur la problématique des RUTP. La France a commencé à prendre conscience du problème des RUTP autour des années 1980 et, l'Australie, autour des années 1990.

Ce mouvement général a donné naissance à de nombreux programmes de recherche à travers le monde, dont : le Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'ENvironnement de la Seine (PIREN-Seine), l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU), le *National Urban Runoff Project*, le *Risk Management Research Plan for Wet Weather Flows* et le *National Pollutant Discharge Elimination System* de l'USEPA, le *Urban Water Program* du CSIRO en Australie, le *Urban Pollution Management Research Program* au Royaume-Uni, ou encore l'*International Hydrological Program* de l'UNESCO, le *National Water-Quality Assessment Program* de l'USGS, … [Parent-Raoult, 2004] ; [Ganaye, 2006]. Les RUTP demeurent encore un sujet qui suscite de nombreuses études et autour duquel des progammes de recherche continuent à se développer en vue d'approfondir les connaissances sur certains aspects spécifiques de la pollution amenée par ces rejets.

I.4.12. Approches et techniques utilisées

De nos jours, de grands efforts sont déployés dans le but de concilier l'assainissement en milieu urbain, la gestion de l'urbanisme et l'environnement. Ce qui conduit à entreprendre des démarches sur la base d'une vision plus large afin de parvenir à mettre en place une « gestion intégrée du cycle de l'eau en milieu urbain ». Dans le cadre de cette démarche, on associe donc l'objectif de protection contre les inondations à des objectifs de qualité des rejets, de protection des milieux aquatiques et à des objectifs socio-économiques. Diverses méthodes sont utilisées afin de répondre à ces objectifs. Parmi les méthodes disponibles, Le Coustumer [2008] en a fait ressortir trois grands groupes :

- une gestion à la source des eaux pluviales afin de déconnecter au maximum les eaux pluviales des réseaux en vue de limiter : (i) le risque d'intrusion des eaux pluviales dans le réseau séparatif d'eaux usées ; (ii) les rejets des Déversoirs d'Orage (DO) ; (iii) les risques d'inondation ; (iv) les impacts sur les milieux récepteurs ;
- le développement de mesures dites non structurelles : éducation de la population sur la gestion des eaux pluviales, contrôle de l'urbanisation et mise en place de procédures pour la prévention de la pollution liée aux eaux pluviales ;
- une intégration de la gestion dans la conception des ouvrages.

En ce qui concerne la gestion à la source des eaux pluviales, des techniques dites « alternatives » sont souvent utilisées. Ces techniques doivent contribuer à [Azzout *et al.*, 1994] :

- la rétention des eaux pluviales à la source et ainsi protéger les écosystèmes ;

- la réduction des volumes vers les exutoires en favorisant l'infiltration de l'eau dans les sols ;
- la régulation des débits vers les réseaux et les exutoires de surface ;
- favoriser l'urbanisation des zones éloignées des exutoires de surface ;
- la valorisation de l'espace urbain ;
- la proposition de possibilités de traitement des eaux pluviales ;
- la réalimentation des nappes d'eau souterraine.

Généralement, les techniques alternatives reposent sur l'aménagement de certains ouvrages spécifiques qui peuvent être utilisés seul ou en série. La littérature ([Azzout et al., 1994] ; [Elliott, 1998] ; [US EPA, 2005]) relate plusieurs de ces techniques qui ont été développées en vue de répondre à la problématique de gestion des eaux pluviales (l'une des principales composantes des RUTP) dont quelques-unes sont citées ci-dessous :

- réalisation de puits d'infiltration ;
- construction de tranchées drainantes ou d'infiltration ;
- réalisation de chaussées poreuses, ou chaussées à structure réservoir ;
- aménagement de noues plantées ou non ;
- construction de bassin en eau ;
- aménagement de bassin de rétention-infiltration ;
- aménagement de bassin d'infiltration ;
- contruction de lagunes artificielles ;
- utilisation de biofiltres ;
- etc.

Ces techniques font également l'objet d'études en vue d'apprécier leur efficacité et d'y apporter les adaptations nécessaires pour répondre à des objectifs particuliers (par exemple, leur efficacité en terme de rétention des polluants, les risques de contamination qu'ils peuvent constituer pour la nappe souterraine au cours de l'infiltration, les problèmes de colmatage rencontrés, etc.).

I.4.2. Les approches et techniques utilisées dans les Pays en Développement (PED)

I.4.21. Contexte international

L'une des pratiques qui est le plus souvent utilisée dans certains PED (et qui est également utilisée dans certains pays Développés), est la récupération de l'eau pluviale pour d'autres utilisations. Elle n'est pas une technique en soi de gestion des RUTP mais elle diminue les quantités d'eaux pluviales qui ruissellent et diminue du même coup le volume de RUTP. Le plus souvent, ces pratiques sont surtout adoptées en vue de répondre à des problèmes d'insuffisance de ressource en eau ou de ressource inaccessible, que pour contribuer à la gestion à la source des RUTP. Ces seules pratiques ne peuvent être considérées comme suffisantes pour assurer une bonne gestion des RUTP, surtout dans le contexte de certains des PED qui disposent, en principe, de moins d'infrastructures et de moyens pour drainer, récupérer ou traiter adéquatement les RUTP, et même les eaux usées.

Par contre, il y a d'autres pays qui appliquent, indépendamment ou en parallèle à cette première pratique, d'autres techniques de gestion des RUTP telles que : la construction de canaux de drainage qui remplissent une fonction de réservoir en vue de réguler les débits de RUTP qui atteignent le milieu récepteur (São Paulo, Brésil), des bassins de rétention (Bangkok, Thaïlande), des techniques d'infiltration (Chili), etc. [Parkinson et Mark, 2006]

On peut conclure, que certaines des techniques utilisées dans les pays développés sont également utilisés dans les PED, avec des adaptations au contexte local des pays concernés, mais il reste cependant beaucoup de pays qui ne sont pas encore sur cette voie.

I.4.22. Le cas d'Haïti

I.4.221. Présentation d'Haïti et de Port-au-Prince

La République d'Haïti (dénommée couramment Haïti) est située dans le bassin des Caraïbes et constitue, avec la République Dominicaine, la deuxième des Grandes Antilles. Elle est bornée au nord, par l'Océan Atlantique ; au sud, par la Mer des Caraïbes ; à l'est, par la République Dominicaine (avec qui elle partage l'Ile d'Haïti) et à l'ouest, par Cuba (90 km) et la Jamaïque (190 km). Haïti est subdivisée actuellement en 10 départements et 140 communes. Elle a une superficie totale de 27 750 km². En 2005, sa population totale était estimée à 8 763 588 habitants (42,2% en zone urbaine) et sa densité de la population était de 324 habitants/km². La population des zones urbaines, suivant le groupe de revenu auquel elle appartient, occupe un habitat très hétérogène. La densité, la surface de la parcelle occupée par un ménage, la surface bâtie et imperméabilisée varient selon le groupe de revenu et les quartiers [MTPTC, 1980] ; [IHSI, 2007].

Haïti est une terre montagneuse dont le relief est très accidenté (plus de 50% de son territoire sont constitués de pentes supérieures à 40%). Elle occupe le tiers occidental de l'île. De part sa position (18° et 20°6' de latitude Nord ; 71°20' et 74°30' de longitude Ouest), le pays présente des climats variés (alternance entre deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches), et il est assez marqué par la sécheresse. La température varient entre 15 °C et 35 °C, suivant les périodes de l'année, et elle décroît régulièrement avec l'altitude [Le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A., 1998] ; [IHSI, 2007].

Figure 5 : **Vue spatiale des Antilles (adaptée de [Porcena Meneus, 2007])**

Port-au-Prince est la capitale d'Haïti et le chef-lieu du Département de l'Ouest du pays. La commune de Port-au-Prince a une superficie de 36,04 km². En 2005, sa population totale était estimée à 801 566 habitants (99,6% en zone urbaine) et sa densité de population était de 22 241 habitants/km². Cette commune s'est développée au fond du Golfe de la Gonâve, en bordure sud de la Plaine du Cul-de-Sac, sur les piedmonts du Morne[8] de l'Hôpital. Elle est bornée au nord par le Golfe de la Gonâve, et la Commune de Delmas ; au sud par les communes de Pétion-Ville et de Carrefour ; à l'est par les communes de Pétion-Ville et de Delmas et à l'ouest, par la commune de Carrefour [IHSI, 2007].

En raison de sa situation géographique et de son développement accéléré, la ville de Port-au-Prince est confrontée à de très sérieux problèmes de drainage [MTPTC, 1980] ; [MTPTC, 1983] :

- un régime tropical des pluies (courtes et violentes) ;
- de fortes pentes et une concentration rapide du ruissellement ;
- de vastes inondations au droit des ruptures de pente ;
- une sensibilité des sols à l'érosion (déboisement du Morne et des voiries insuffisamment revêtues) ;
- un charriage de solides se déversant dans la ville et contribuant à remblayer les exutoires.

D'un point de vue très général, le secteur « Eau et Assainissement » en Haïti relève, directement ou indirectement, de plusieurs organismes étatiques, des mairies, de plusieurs organismes internationaux et d'Organisations Non-Gourvernementales (ONG) qui y sont très actifs. Le secteur de l'« Eau Potable et de l'Assainissement (EPA) » est en cours de réforme présentement. L'objectif principal de cette réforme qui est initiée par le Ministère des Travaux Publics, Transports et Communications (MTPTC), qui est l'organe étatique responsable de ce secteur en Haïti, est de parvenir à des systèmes de gestion plus adaptés afin de faciliter un meilleur développement du pays.

I.4.222. Gestion des RUTP à Port-au-Prince

Les premiers efforts en termes d'études, d'investissements financiers et d'exécution de travaux dans le domaine de la gestion des eaux pluviales en Haïti ont été réalisés niveau de la Région Métropolitaine de Port-au-Prince (RMPP[9]), et plus particulièrement à Port-au-Prince. Les premiers investissements consentis dans ce domaine remontent pratiquement au début des années 70, dans le cadre d'un projet de drainage des eaux pluviales dont deux de ces quatre composantes portaient principalement sur la réhabilitation, le renforcement et l'extension du réseau de drainage existant en vue de faciliter le rejet des eaux pluviales de la ville dans la mer (au niveau de la Baie de Port-au-Prince). Ce projet a été entamé mais n'a pas été exécuté dans sa totalité en raison de difficultés de différents ordres. En 1983, on estimait que le réseau principal de drainage à Port-au-Prince était constitué de 37 km de collecteur et n'incluait pas les ravines dont le lit était resté dans son état

[8] Morne : Terme utilisé aux Antilles pour désigner une colline.

[9] A l'époque de cette étude la Région Métropilitaine de Port-au-Prince (RMPP) était constiuée par quatre communes : Port-au-Prince, Pétion-Ville, Delmas et Carrefour.

naturel. Vers la fin des années 90, un nouveau diagnostic de la situation a été réalisé dans lequel il est mentionné que l'évacuation des eaux pluviales étaient défectueuse au niveau de la RMPP et l'une des raisons avancées était le manque d'entretien des canaux de drainage [MTPTC, 1983] ; [Le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A., 1998].

La commande de ce diagnostic était la première manifestation de la volonté du gouvernement de la République d'Haïti d'améliorer la situation en procédant « à la remise en état des systèmes d'assainissement existants, à l'installation de systèmes additionnels et leur entretien, pour concrétiser un développement durable dans la région et l'accès de la majorité aux services de base ». Pour s'en donner les moyens, il a commandé des études qui devaient aboutir à la proposition d'un Schéma Directeur d'Assainissement pour la RMPP [Le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A., 1998]. L'étude a atteint son objectif en formulant, en 1998, une proposition de Schéma Directeur d'Assainissement dont la mise en place effective tarde encore à venir.

Présentement, il n'existe pas de réseaux d'assainissement en Haïti. De ce fait les rejets, d'eaux usées notamment, sont éliminés soit par épandage, par puits perdus et latrines, par quelques fosses septiques ou par rejet direct ou indirect dans le réseau de drainage. Ce résau ne dessert qu'une partie du centre de Port-au-Prince et est généralement sous-dimensionné.

Les événements pluvieux en Haïti peuvent être classés en 2 grandes catégories : des pluies d'orage tropical (par exemple, 5 mm/24h au minimum) ou des pluies cycloniques (24 à 72h de pluie plus ou moins ininterrompue). La pluviométrie annuelle de Port-au-Prince est essentiellement constituée d'épisodes pluvieux très brefs et très intenses qui, compte-tenu des pentes importantes, engendrent des ruissellements très concentrés qui se déversent très rapidement en mer. Le ruissellement est donc grandement privilégié au détriment de l'infiltration [MTPTC, 1980].

De manière générale, en terme de gestion des rejets liquides en Haïti, l'accent est mis sur quelques travaux d'extension de réseau et prioritairement sur le curage des réseaux et des canaux de drainage existants afin de limiter, dans la mesure du possible, les problèmes d'inondation, et des situations de gênes associées, qui sont enregistrés à répétition dans le pays, à la suite du moindre événement pluvieux.

Dans ce contexte de gestion de l'urgence, l'aspect protection des milieux aquatiques récepteurs est très négligé ou, du moins, les mesures devant y conduire ne sont pas clairement définies ou appliquées adéquatement. De plus, il y a une méconnaissance (d'un point de vue quantitatif et d'un point de vue qualitatif) des charges polluantes contenues dans les RUTP qui atteignent les milieux aquatiques en Haïti. Les principaux travaux qui ont été réalisés dans ce domaine portent essentiellement sur l'aspect génie civil des ouvrages. En ce qui concerne les travaux scientifiques pourtant sur ce type de rejets, le Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement (LAQUE) de l'Université Quisqueya (UniQ) est le principal intervenant dans ce domaine en Haïti.

Il est donc essentiel d'acquérir de telles données afin de parvenir à la proposition de techniques alternatives de gestion de ces rejets en vue de réduire les impacts négatifs de ces derniers sur les milieux récepteurs en Haïti.

I.5. ASPECTS REGLEMENTAIRES EN RAPPORT A LA GESTION DES RUTP

I.5.1. Contexte International et des Pays Développés

Cette partie vise à présenter quelques exemples de contextes réglementaires applicables aux RUTP.

Aux Etats-Unis, le *Clean Water Act* contient les principales sections dans lesquelles le Congrès Américain confit la charge à l'EPA (*Environmental Protection Agency*) de développer la réglementation et de faire toutes les propositions à l'échelle nationale en ce qui concerne les systèmes de rejets polluants (*National Pollutant Discharge Elimination System* - NPDES) et de désigner les rejets d'origine pluviale qui nécessitent d'être réglementés ainsi que les dispositions nécessaires en matière de gestion de ces rejets. L'US EPA développa ce programme sur la base de différentes phases (NPDES Phase I promulguée vers la fin de l'année 1990, NPDES Phase II vers les années 1998-1999). Ces règlements généraux sont également renforcés par des dispositions régionales, locales et par des programmes spécifiques à certaines problématiques ou à certaines zones [US EPA, 1999a] ; [Burton Jr et Pitt, 2001].

Dans le contexte Européen, la réglementation concernant les RUTP repose sur deux principaux textes : la Directive des eaux résiduaires urbaines du 21 mai 1991 et la Directive Cadre sur l'Eau du 22 décembre 2000.

En France, les deux textes européens sont à la base de : la Loi sur l'eau du 3 janvier 1992 et de la Loi sur l'eau et les milieux aquatiques du 30 décembre 2006, qui constituent les principaux textes législatifs et réglementaires concernant les RUTP. Entre la Loi sur l'eau du 3 janvier 1992 et la Loi du 30 décembre 2006, d'autres décrets, arrêtés, et directive cadre ont également été publiés. Nous reprenons dans ce document certains éléments d'information de la Loi du 3 janvier 1992, de la Directive Cadre Européenne du 23 octobre 2000 et de la Loi du 30 décembre 2006 [Polge, 2007] ; [Le Coustumer, 2008] :

- Loi sur l'eau n° 92-3 du 3 janvier 1992 : elle présente l'eau comme un patrimoine commun à la nation. A ce titre, « sa protection, sa mise en valeur et le développement de la ressource utilisable, dans le respect des équilibres naturels sont d'intérêt général ». Parmi les objectifs généraux figurant dans cette loi, on peut citer : i) la préservation des écosystèmes aquatiques, des sites et des zones humides et la protection contre toute pollution ; ii) la restauration de la qualité des eaux superficielles souterraines ;
- Directive Cadre Européenne 2000/60/CE du 23 octobre 2000 : elle établit le cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau avec un objectif de résultat qui est celui d'« atteindre un bon état écologique des milieux aquatiques avant 2015 ». Les étapes de mise en pratique de cette directive s'organise autour de plusieurs activités : la définition des milieux aquatiques, la réalisation de l'état des lieux, la définition des sites de référence et des milieux aquatiques fortement perturbés, l'étalonnage en vue d'homogénéiser des outils d'évaluation de la qualité entre les différents pays, les programmes de mesure et la vérification de l'atteinte des objectifs ;
- La Loi du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques : elle présente également l'eau comme un patrimoine qu'il faut protéger et gérer de façon durable et globale. Elle a pour but

de permettre aux collectivités territoriales et aux acteurs de l'eau d'atteindre les objectifs de la Directive Cadre n° 2000/60. Il faut noter que l'article 48 de cette loi (qui ajoute les articles suivants au CGCT : L. 2333-97, L. 2333-98, L. 2333-99) introduit la possibilité de « Taxe pour la collecte, le stockage et le traitement des eaux pluviales et de ruissellement » tout en précisant leur condition d'application.

En se référant à la Loi du 30 décembre 2006, on constate qu'elle favorise, dans son esprit, l'implantation des techniques alternatives pour les opérations nouvelles car la taxe sur les eaux pluviales est réduite ou annulée lorsque les eaux pluviales sont déconnectées des réseaux. Cependant, si elle montre, dans son principe, l'importance d'une bonne gestion des eaux pluviales et reconnaît l'impact potentiel des rejets de temps de pluie sur l'environnement, elle est très controversée quant à sa réelle efficacité et à son réel pouvoir d'incitation (possibilité et non obligation de lever cette taxe, montant maximum faible si on le compare aux montants prélevés pour les mêmes objectifs dans d'autres pays européens, avec par exemple une taxe moyenne en 2003 dans les villes allemandes de 0,80 €/m²/an et de 1,65 €/m²/an en 2007 pour la ville de Berlin) [Le Coustumer, 2008]. Cet état de fait induit des avis partagés en ce qui concerne l'efficacité de cette loi sur le long terme.

I.5.2. Contexte des Pays en Développement - Le cas de Haïti

En Haïti, les textes réglementaires existants ne portent pas principalement sur la gestion des RUTP sur la base d'une approche visant essentiellement à protéger les milieux récepteurs. Cependant, il y a un effort certain qui est déployé aussi bien par l'Etat, à traves les différentes institutions qui interviennent dans le secteur de l'« Eau et de l'Assainissement » en Haïti (ministères et organismes autonomes), que par des instances privées (universités, …) et organismes internationaux, en vue de pallier cette lacune. Cet effort se manifeste notamment par l'élaboration et la proposition de textes de loi, qui concerne directement ou indirectement la gestion des RUTP, au Parlement Haïtien en vue de leur vote et de leur mise en application par la suite.

A titre d'initiative déjà entreprise, on peut citer les exemples suivants : l'élaboration du Schéma Directeur de l'Assainissement par le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A. [1998], le Programme de Réforme et de Modernisation du Secteur de l'Eau Potable et de l'Assainissement initié par le MTPTC, les activités de recherche initiées par l'Université Quisqueya et notamment celles du LAQUE [Emmanuel, 2008], de l'Université d'Etat d'Haïti (UEH) dans le cadre de leur programme de formations (surtout dans le domaine des déchets solides), d'autres actions du Ministère de l'Environnement (MDE) en Haïti en matière de protection de l'environnement, …

L'EVALUATION DES RISQUES ECOTOXICOLOGIQUES (EDREcotox)

II. L'EVALUATION DES RISQUES : ENVIRONNEMENTAUX ; ECOLOGIQUES ; ECOTOXICOLOGIQUES (EDRECOTOX)

II.1. INTODUCTION ET TERMINOLOGIE

Plusieurs définitions existent dans la littérature pour l'expression « Evaluation du risque (EDR ou ER) » et quelques unes d'entre elles ont été présentées par Rivière [1998] : Suter [1993] définit l'évaluation du risque comme étant « l'opération qui assigne des niveaux et des probabilités aux effets négatifs des activités humaines et des catastrophes naturelles ». Dans cette définition, le terme « effet négatif » fait référence à une altération de la capacité fonctionnelle ou de la capacité de récupérer un fonctionnement normal dans un délai raisonnable après un stress. Pour Covello et Merkhofer [1993], l'évaluation du risque est une opération systématique pour décrire et quantifier les risques associés à des produits dangereux, des opérations, des actions ou des événements ». En ce qui concerne Volmer *et al.* [1988], ils définissent l'évaluation du risque comme étant « des méthodes destinées à estimer l'importance et la probabilité d'effets négatifs des substances anthropogéniques sur l'environnement ». Rodricks [1994] a également définit cette expression en précisant que « l'évaluation du risque … est un moyen systématique pour organiser l'information et la connaissance disponibles et pour spécifier le niveau de certitude scientifique, en relation avec les données, modèles et hypothèses nécessaires ; l'objectif est d'en tirer des conclusions sur les risques pour la santé, de quelque nature qu'ils soient ».

Il ressort de ces définitions que l'évaluation du risque est fondée sur la distinction fondamentale entre danger et risque. Le danger fait référence à la potentialité de l'élément ou d'un objet considéré d'exercer des effets négatifs sur le milieu et les espèces vivantes, s'il entre en contact avec eux. Le risque, quant à lui, prend en compte l'existence d'une possible exposition aux objets dangereux ; le risque est la probabilité d'apparition d'effets toxiques (d'effets négatifs) après l'exposition des organismes à un objet dangereux [Rivière, 1998]. Covello et Merkhofer [1993] précisent que le risque est un concept « au minimum bi-dimensionnel, impliquant (a) la possibilité d'une issue négative et (b) une incertitude sur l'apparition, la chronologie et la gravité de cet effet négatif. Si l'une de ces caractéristiques n'existe pas, il n'y a pas de risque ».

Globalement, l'évaluation des risques est une démarche qui peut s'appliquer sous différentes formes en fonction du domaine d'application : les assurances, l'ingénierie, …. La santé humaine et l'environnement sont deux domaines scientifiques où s'applique cette démarche. Lorsqu'il s'agit de la santé humaine, on parle d'évaluation des risques sanitaires qui, selon le National Research Council (NRC) [1994], réfère à « l'évaluation des informations sur le danger intrinsèque des substances, le degré d'exposition de l'homme à ces substances et la caractérisation du risque qui en découle » [Rivière, 1998]. L'évaluation des risques environnementaux touche tout ce qui a trait aux risques globaux (effet de serre, changements climatiques, …). Mais quand on s'intéresse aux risques locaux relatifs aux écosystèmes, aux milieux physiques et aux organismes végétaux et animaux autres que l'homme, à ce moment on parle d'évaluation des risques écologiques. Norton *et al.* [1992] ont défini l'évaluation du risque écologique comme étant « l'opération qui évalue la vraisemblance que des effets écologiques négatifs se produisent comme résultat de l'exposition à des stresseurs » [Rivière, 1998].

Dans la mesure où l'on s'intéresse à des dommages liés à la diffusion de composés toxiques[10], on a plus tendance à parler d'évaluation des risques écotoxicologiques [Donguy et Perrodin, 2006]. Rivière [1998] et Bermond [2002] soulignent que l'évaluation des risques écotoxicologiques, que l'on appellera (EDREcotox) dans la suite du document, est un domaine scientifique récent. Mais, avant de traiter spécifiquement de l'évaluation des risques écotoxicologiques, qui est le domaine qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de cette étude, nous allons présenter une synthèse sur l'écotoxicologie.

La paternité du mot « écotoxicologie » est attribuée à Truhaut [1977]. Faute d'un agrément universel, Rivière [1998] définit l'écotoxicologie comme « l'étude du devenir des polluants et de leurs effets sur l'environnement de l'homme, c'est-à-dire les milieux abiotiques et les éléments vivants qui les peuplent ». Dans le rappport de Bermond [2002], l'écotoxicologie est définie comme étant la science qui étudie les effets des substances chimiques et des radiations ionisantes sur les écosystèmes. Ramade [2007] présente l'écotoxicologie comme une discipline qui se place à la confluence de l'écologie, de la toxicologie et de la chimie de l'environnement. Ramade [1997] a défini l'écotoxicologie comme la science qui étudie les polluants dans les écosystèmes. Pour Connell *et al.* [1999], l'écotoxicologie est la science qui évalue, surveille et prévoit le devenir des substances polluantes dans l'environnement. Les définitions qui donnent la prépondérance à la quantification des flux et au devenir des substances grâce à l'analyse chimique des polluants, sont qualifiées d'incomplètes par Ramade [2007]. En effet, il souligne que de telles définitions éludent la finalité majeure de la discipline qui est d'évaluer les conséquences écologiques des pollutions et de prévoir de la sorte les effets potentiels de nouvelles substances afin de mettre en œuvre des mesures de prévention qui permettent d'éliminer des risques de dommages difficilement réparables *a posteriori*.

Pour Rivière [1998], les relations entre « écotoxicologie » et « évaluation du risque » sont à double sens : c'est l'écotoxicologie qui fournit les bases scientifiques et les données qui permettront l'évaluation du risque, mais inversement, ce sont les besoins de l'évaluation du risque qui créent et génèrent les études écotoxicologiques. La discipline écotoxicologique peut être subdivisée en écotoxicologie rétrospective ou en écotoxicologie prédictive. L'écotoxicologie rétrospective utilise des données préalablement bien établies sur la réponse aux polluants toxiques des systèmes biologiques complexes pour comprendre *a posteriori* l'effet d'un polluant. L'écotoxicologie prédictive permet d'établir et de prévoir le comportement vraissemblable et les effets prévisibles de substances chimiques pouvant être introduites dans l'environnement. L'écotoxicologie prédictive intervient de façon déterminante dans la finalité des méthodologies d'évaluation des risques pour la santé des écosystèmes et la mise au point de méthodes de protection environnementale plus efficaces [Ramade, 2007].

L'évaluation des risques écotoxicologiques (EDREcotox) peut donc avoir recours à l'écotoxicologie rétrospective ou l'écotoxicologie prospective. Selon Bermond [2002] l'EDREcotox étudie, avec une démarche très conceptualisée, les risques que représentent les activités humaines (et par extension

[10] Ramade [1993] définit un « toxique » comme étant une substance pouvant être absorbée … et qui provoque une intoxication des organismes affectés pouvant entraîner la mort [Rivière, 1998].

les autres perturbations) pour l'écosystème : tous types de stresseurs chimiques (produits toxiques par exemple), physiques (effets de la régulation des débits sur le fonctionnement de zones humides) et biologiques (prolifération de cyanobactéries) peuvent être étudiés. Rivière [1998] souligne que c'est un domaine scientifique complexe, avec une base conceptuelle importante dont le vocabulaire n'est pas encore fixé et unanimement accepté.

L'EDREcotox est née en pays anglo-saxon et s'est rapidement diffusée aux Etats-Unis, au Canada, et à moindre échelle en Europe, pour deux grands types d'application : l'évaluation des risques liés aux substances chimiques surtout, et le diagnostic de sites particuliers ou de problèmes écologiques ciblés. Bermond [2002] souligne que la France reste quant à elle timide dans l'utilisation de ce type de méthode encore très controversé dans les mondes scientifique et politique. Selon Rivière [1998], cette origine anglophone semble influencer le retard accumulé par rapport à la définition d'un vocabulaire francophone bien établi.

II.2. LES METHODOLOGIES D'EVALUATION DES RISQUES ECOLOGIQUES OU ECOTOXICOLOGIQUES EXISTANTES

II.2.1. Introduction et terminologie

La littérature n'établit pas une différence stricte entre les expressions « Evaluation des Risques Ecologiques (EDRE ou ERE) » et « Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (ERE ou EDREcotox) » et assez souvent ces deux expressions sont utilisées de manière équivalente. En effet, généralement on rencontre principalement l'expression « Evaluation des Risques Ecologiques » pour décrire la démarche conduite en vue d'évaluer les risques pour les écosystèmes.

Pour la présentation des méthodologies existantes et en rapport aux écosystèmes nous utiliserons essentiellement l'expression Evaluation des Risques Ecologiques (EDRE). Si l'information donnée est tirée d'une source en rapport à une méthodologie existante pour l'Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) nous prendons le soin de le préciser.

L'EDREcotox est considérée comme une pratique scientifique qui est, présentement, en essor au niveau international [CEAEQ, 1998]. Son développement est en liaison avec les méthodologies d'EDR existantes.

II.2.2. Présentation des méthodologies existantes

Plusieurs auteurs et plusieurs études dans le domaine de l'EDRE ([Rivière, 1998] ; [CEAEQ, 1998] ; [Suter II, 2006], …) indiquent qu'une EDRE se base toujours sur un scénario donné. De ce fait, elle est donc spécifique au scénario pour lequel il a été développé. De manière générale, il s'agit de simuler les effets et le comportement des xénobiotiques dans un environnement simplifié. Les transferts de substances entre les différents compartiments abiotiques sont décrits par des systèmes d'équations plus ou moins complexes faisant intervenir les propriétés physico-chimiques des molécules. En ce qui concerne les compartiments biotiques, une sélection des espèces représentatives de différents niveaux trophiques est obligatoire [Devillers, 2000]. Selon Sourisseau [2006], le niveau d'agrégation du scénario influence de manière significative les résultats des EDRE et se révèle donc primordial

[Boillot, 2008]. Rivière [1998] souligne également que le choix du modèle dépend du scénario et que la possibilité de réalisation d'un scénario est également très dépendante des modèles disponibles.

Ces informations permettent donc de mieux comprendre la raison de l'existence de méthodologies différentes retracées dans la littérature mais également le besoin de devoir en développer d'autres.

II.2.3. Contexte d'élaboration des méthodologies existantes

L'EDRE, telle qu'elle est conceptualisée actuellement remonte au début des années 1990. Mais, elle correspond au produit de plus d'un demi-siècle de réflexions et d'expérimentations. Ces dernières sont étroitement liées avec les fortes préoccupations manifestées dans les années 1950-1960, en Amérique du Nord et en Europe, vis-à-vis de la protection des écosystèmes (de l'environnement) suite à leurs expositions à des pollutions d'origine anthropique. Ces préoccupations ont donc conduit à l'élaboration d'un nombre important de législations en matière de protection de l'environnement aquatique surtout (par exemple, la loi américaine interdisant les déversements de produits pétroliers dans les zones côtières dès 1961). Par la suite, une série d'accidents liés aux produits chimiques à cette époque est venue renforcer la raison d'être de ces premières inquiétudes vis-à-vis des effets des polluants sur l'environnement. L'Académie des Sciences américaine, comprenant le besoin d'une rationalisation des prises de décision en matière d'environnement, développe et conceptualise, dans les années 1980, une approche méthodologique d'évaluation des risques pour la santé publique. Il s'ensuivit une série de travaux de recherche, dont ceux de Suter et Barnthouse, qui ont été repris par l'US EPA et qui proposa, en 1992, un premier guide méthodologique pour la gestion des sites industriels pollués [Bermond, 2002] ; [Perrodin, 2006].

Près d'une dizaine d'années de travaux par la suite ont permis d'améliorer ce premier guide, qui est devenu « The Guideline for Ecological Risk Assessment (Ligne directrice pour la conduite d'une EDRE) ». Il a été publié par l'US EPA en 1998 et il constitue, jusqu'à présent, un référentiel pour la majorité des instances nationales et internationales (Organisation de Coopération et de Développement Economique OCDE, Health Canada, Union Européenne) dans le domaine de l'EDRE [Forbes et Forbes, 1994a] ; [Rivière, 1998] ; [Bermond, 2002] .

Les travaux conduit par les instances de différents pays les ont porté à adapter cette méthodologie générale en fonction des domaines dans lesquels des besoins d'EDRE se faisaient sentir. Parmi ces études, certaines rentrent dans le domaine des études prospectives (études préalables à une nouvelles installation industrielle, un nouvel aménagement urbain, à un traitement d'une pollution existante pour en apprécier les bénéfices environnementaux, …) et d'autres sont plutôt à caractère rétrospectif (dans le but de comprendre les causes d'un effet constaté sur les écosystèmes d'un site, mais aussi de tirer profit des enseignements du passé pour mieux prévoir l'avenir). Ces deux types d'approche sont cependant complémentaires, chacune étant adaptée à un contexte donné [Perrodin, 2006].

D'autres référentiels peuvent être choisis pour procéder à une classification des méthodologies existantes. Hayet [2006] a réalisé une étude dans laquelle il a fait ressortir les trois types d'approches qui sont rencontrées à travers les méthodologies d'EDRE : une approche « générale »,

une approche « substances », une approche « matrice ». Pour y parvenir, il s'est basé sur les résultats d'une étude réalisée par ILIS (Institut Lillois en Ingénierie de la Santé), dans le cadre du programme RECORD (Réseau COopératif de Recherche sur les Déchets) [2005]. L'étude portait sur l'analyse comparative de neuf méthodologies d'EDRE existantes et la définition des conditions préférentielles d'utilisation de chacune de ces méthodologies.

Une synthèse des principales conclusions tirées de cette étude est présentée ci-dessous en reprenant, dans un premier temps, les caractéristiques des trois classes qui ont été définies, et, dans un second temps, en regroupant ces neufs méthodologies au moyen de ces classes et de leur applicabilité ([Hayet, 2006] ; [Boillot, 2008]).

- Les méthodologies d'approches dites « générales » ont été développées afin d'évaluer le risque écologique d'un site pour lequel plusieurs agents stresseurs, plusieurs vecteurs et plusieurs cibles sont identifiés ;
- Les méthodologies d'approches dites par « matrice » ont été développées afin d'évaluer le risque écologique d'une "mixture globale" (tel qu'un sédiment ou un déchet) constituant la source de pollution du scénario étudié.
- Les méthodologies d'approches dites par « substances » ont été développées afin d'évaluer le risque écologique d'une substance destinée à la commercialisation.

Tableau 4 : Les différentes approches des méthodologies d'EDRE (applications et principaux guides) [RECORD, 2006] ; [Boillot, 2008]

Types d'approches	Applications	Principaux guides méthodologiques
Générales	Sites et sols pollués	○ Guidelines for Ecological Risk Assessment- USA - [US EPA, 1998] ○ Procédure d'évaluation du risque écotoxicologique pour la réhabilitation des terrains contaminés - Québec - [CEAEQ, 1998] ○ Guideline on Ecological Assessment - Australia - [NEPC, 1999] ○ Ecological Risk Assessment - United Kingdoms - [Environment Agency of United Kingdoms, 2003]
Matrices	Matrices de type sédiment ou déchet	○ Evaluation détaillée des risques pour les écosystèmes. Gestion des sites et sols pollués - France - [MATE, 2000] ○ Evaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage - France - [CETMEF, 2001] ○ Evaluation de l'écocompatibilité des scénarios de stockage et de valorisation des déchets - France - [ADEME, 2002b]
Substances	Substances destinées à la commercialisation	○ Technical Guidance Document on Risk Assessment for new notified substances - European Union - ECB - [C. E., 2003] ○ Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques - France - [SSM-INRA 2004]

Si certaines expositions environnementales à des contaminants chimiques mettent en jeu une seule substance, la plupart du temps les contaminations environnementales impliquent des expositions simultanées ou séquentielles à des mélanges de composés qui peuvent induire des effets toxiques

semblables ou non, sur la période d'exposition [INERIS, 2006a]. Or, très peu d'outils existent pour évaluer les risques écotoxicologiques présentés par des sources de polluants en mélange (dépôts de déchets, sols pollués, rejets dans le milieu naturel d'effluents urbains ou industriels, …). Les méthodologies d'EDRE existantes portent essentiellement sur la caractérisation de l'écotoxicité intrinsèque des sources de pollution (effluents liquides ou gazeux, déchets, sédiments contaminés, etc.) et ne reflètent que très peu le risque qu'elles présentent dans un scénario donné. Il est donc nécessaire de développer des méthodologies permettant d'étudier *a priori* le risque écotoxicologique présenté par ces sources de pollution dans différents « scénarios d'intérêt » [Perrodin, 2006].

En France, il existe quelques méthodologies concernant des domaines très particuliers qui ont été élaborées dans cet objectif, dont :

- IFREMER : Méthodologie d'EDR liés à l'immersion de boues de dragage des ports maritimes [Alzieu, 2001] ;
- CETMEF : Méthodologie d'évaluation écotoxicologique de matériaux de dragage [Babut et Perrodin, 2001] ; [CETMEF, 2001] ;
- ADEME : Evaluation de l'écocompatibilité de scénarios de stockage et de valorisation des déchets [ADEME, 2002b] ;
- LSE - ENTPE : Guide méthodologique d'évaluation des risques écologiques liés aux aménagements urbains et aux infrastructures de transport [Donguy et Perrodin, 2006].

Les besoins demeurent, malgré tout, importants par rapport à différentes problématiques existantes [Ragas, 2008] dont celle faisant l'objet de cette thèse (le déversement de RUTP dans les cours d'eau).

II.2.4. Principales phases d'une méthodologie d'évaluation des risques écologiques (EDRE)

Le schéma classique qui est utilisé par la plupart des auteurs ([US EPA, 1998] ; [Suter II, 1993] ; [Rivière, 1998] ; [Emmanuel, 2004] ; [Donguy et Perrodin, 2007] ; [Boillot, 2008]), pour la conduite de méthodologies d'EDRE, comporte trois phases : 1) la formulation du problème, 2) l'analyse et 3) la caractérisation du risque. Ce cadre méthodologique général est une évolution de la méthodologie d'évaluation des risques sanitaires du National Research Council (NRC) [Suter II, 2006].

D'autres étapes encadrent ce schéma général dont, notamment :

- la phase d'évaluation du danger qui est une étape préliminaire qui vise à caractériser de façon relative le potentiel que présente une situation de contamination à engendrer un effet néfaste (le danger) [CEAEQ, 1998] ;
- les étapes de présentation et de gestion du risque au cours des quelles les résultats obtenus sont communiqués au gestionnaire qui prendra les décisions et mesures adéquates à la gestion de ce risque.

Dans ce document, on développe de manière détaillée la méthodologie d'EDREcotox. En ce qui concerne l'étape préliminiaire, les informations découlant de la réalisation de cette étape peuvent être retracées au moyen de la bibliographie, pour la problématique traitée (les RUTP).

La figure ci-dessous (Figure 6) reprend le schéma général des méthodologies d'EDRE. On constate, dans ce schéma, que la phase d'analyse comprend deux opérations parallèles : la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets écotoxicologiques.

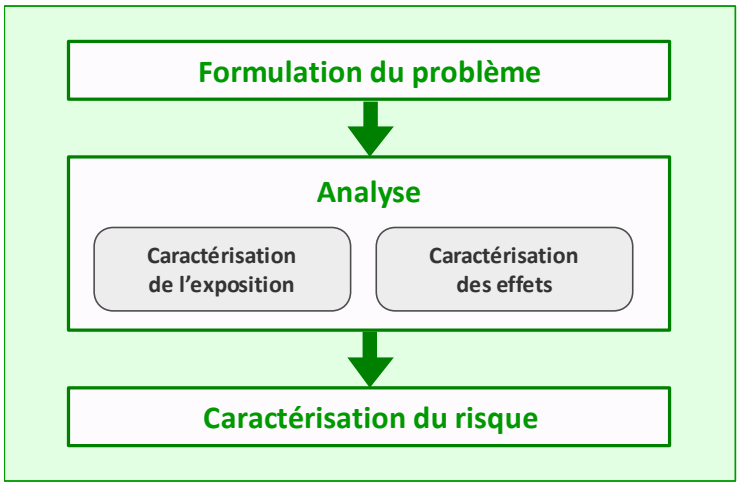


Figure 6 : Principales phases d'une méthodologie générale d'EDRE

Les principaux éléments d'informations disponibles pour chacune de ces 3 phases sont présentés dans les paragraphes ci-dessous.

II.2.41. Formulation du problème

L'objectif de cette phase initiale du processus d'EDR est de cadrer les phases d'analyse et de caractérisation du risque. Au cours de cette phase fondamentale de définition du problème, l'évaluateur de risque aura à : procéder à certaines investigations, identifier précisément les données à acquérir, les techniques de mesure ou d'évaluation, générer les hypothèses préliminaires, définir le cadre d'interprétation des résultats [Rivière, 1998] ; [Babut et Perrodin, 2001] ; [Bermond, 2002] ; [Suter II, 2006].

La méthodologie générale développée par l'US EPA [1998] présente les trois principales étapes de cette phase ([Rivière, 1998] ; [Babut et Perrodin, 2001] ; [Suter II, 2006] ; [Boillot, 2008]) :

- la description détaillée du contexte et l'intégration des données disponibles : cette étape a pour but de clarifier le scénario étudié. Il s'agit d'identifier les sources d'émission de polluants, les scénarios d'exposition, les voies de transferts et les écosystèmes cibles, à partir des connaissances existantes (limites géographiques et temporelles, stresseurs, cibles, vecteurs potentiels…).
- la sélection des paramètres d'évaluation et l'élaboration du modèle conceptuel : il s'agit de sélectionner les éléments des écosystèmes cibles à protéger relativement au scénario. Le modèle conceptuel correspond au support de la communication entre les évaluateurs et les gestionnaires, c'est un schéma qui permet une vision intégrée du scénario et qui formule une série d'hypothèses basées sur les relations entre les sources du « stress » étudié, les effets de

ce stress et les points finaux (endpoints) d'évaluation. Sur ce schéma figure les informations concernant : la sélection des stresseurs, les sources d'émission, les voies de transfert, les écosystèmes cibles à protéger, les ratios massiques ou volumiques de dilution, les échelles spatiales et temporelles, les bioessais et les endpoints envisagés, et les approches utilisées.

- l'élaboration d'un plan d'analyse : cette étape achève la phase de formulation du problème en insistant sur la nécessité de programmer l'évaluation et l'interprétation des données avant de débuter les analyses [Emmanuel, 2004]. Ce plan doit également décrire les méthodes qui seront utilisées pour générer les données nécessaires ainsi que les approches qui seront utilisées pour développer de nouveaux modèles [Suter II, 2006].

C'est également au cours de l'élaboration de cette phase de formulation du problème que le type d'approche de caractérisation des effets écotoxicologiques est sélectionné (substances ou bioessais). L'approche substance se base sur l'analyse physico-chimique des stresseurs (ex : plomb, PCBs, médicaments…) et utilise les valeurs des Bases de Données Internationales (BDI) d'écotoxicologie alors que l'approche bioessais considère les stresseurs en tant qu'une entité (ex : effluent, déchet, sédiment…) sur laquelle sont réalisées des bioessais [Donguy et Perrodin, 2006] ; [Donguy et Perrodin, 2007] ; [Boillot, 2008].

II.2.42. Phase d'analyse

La phase d'analyse comprend deux opérations parallèles qui permettent d'acquérir les données nécessaires sur l'exposition des cibles concernés (**caractérisation de l'exposition**) et sur les effets observés suite à cette exposition (**caractérisation des effets**). Ces deux phases sont en constante interaction [Rivière, 1998] ; [Babut et Perrodin, 2001].

Les différents outils d'évaluation découlant de la phase initiale (Formulation du problème) que l'on peut mettre en œuvre peuvent être classés en deux grandes catégories [Babut et Perrodin, 2001] ; [Bermond, 2002] :

- les modèles expérimentaux : ces modèles visent à reproduire au mieux les conditions du terrain et à observer les conséquences de l'introduction d'une pollution sur les écosystèmes. Pour la durée testée, ils offrent l'avantage du réalisme de l'observation effectuée mais présentent également certains inconvénients, relatés par différents auteurs, dont : leur coût, le délai des études effectuées, les difficultés rencontrées pour contrôler l'ensemble des paramètres des dispositifs expérimentaux complexes mis en œuvre, … ;
- les modèles mathématiques, dont les modèles statistiques qui nécessitent de nombreuses données ; de ce fait ils ne sont pas aisément utilisables dans les démarches opérationnelles ; et les modèles déterministes : qui sont élaborés après une analyse fine des phénomènes physiques, chimiques et biologiques qui peuvent intervenir lors de l'exposition, dans les conditions du scénario, des écosystèmes cibles aux matériaux pollués étudiés.

II.2.421. La caractérisation de l'exposition

La caractérisation de l'exposition consiste à déterminer les probabilités de contact spatio-temporel entre les stresseurs (le facteur causal) et les « cibles » (récepteurs)[US EPA, 1998]. Elle passe donc par l'analyse des sources, des transferts depuis ces sources, et de la distribution des stresseurs dans l'environnement. L'exposition dépend à la fois des concentrations des stresseurs dans les milieux et des caractéristiques et comportements des organismes cibles. Cette analyse peut être réalisée à l'aide de calculs théoriques ainsi que sur la base de résultats expérimentaux [Babut et Perrodin, 2001].

Cette phase aboutit à la détermination d'une (de plusieurs ou d'un ensemble de) valeur(s) de caractérisation de l'exposition. Cette valeur correspond à la concentration du (des) stresseur(s) à laquelle les cibles sont exposés par voie de contact et par ingestion [Suter II, 2006]. Dans le cas d'une approche « substances », on parle de la PEC (Predicted Environnemental Concentration), alors que dans le cas d'une approche « matrice », on parle du pourcentage de la matrice dans le milieu [Donguy et Perrodin, 2007]. Il s'agit dans les deux cas de la concentration que l'on s'attend à trouver dans le milieu suite aux différents apports. Cette détermination peut s'avérer complexe car il faut tenir compte de nombreux facteurs de modification pouvant intervenir dans les voies de transfert : dilution, évaporation, biodégradation, bioaccumulation, changement de spéciation des substances, caractéristiques de l'écosystème, etc.. L'exposition peut également être directe ou indirecte, à long ou à court terme, aiguë ou diffuse [Rivière, 1998] ; [RECORD, 2006] ; [Donguy et Perrodin, 2006] ; [Boillot, 2008].

II.2.422. La caractérisation des effets

Cette étape permet de relier une dose d'exposition à des effets observés chez une espèce donnée, une communauté ou même des fonctionnalités de l'écosystème [Bermond, 2002]. Concrètement, elle s'appuiera sur les approches biologiques qui incluent principalement des bioessais et des bioindicateurs [Dillon et Gibson, 1990] ; [Burton Jr *et al.*, 1992] ; [Burton Jr et McPherson, 1995] ; [Babut et Perrodin, 2001].

La finalité de cette étape est de définir dans quelle mesure les organismes de l'écosystème cible sont significativement sensibles aux stresseurs auxquels ils sont exposés [Donguy et Perrodin, 2006]. Elle aboutit à l'acquisition de différentes valeurs d'effets écotoxicologiques (NOEC, CE_{20}, CE_{50}, …) permettant de calculer la valeur d'absence d'effet significatif vis-à-vis de l'écosystème cible que l'on nomme parfois CSE (Concentration Sans Effet) [Boillot, 2008].

Cette étape de caractérisation des effets peut être réalisée sur site et/ou en laboratoire. On peut également la conduire sur la base de deux types d'approches : les approches dites « substances » et/ou les approches dénommées « approche matrice » ou « approche bioessais ». En ce qui concerne les approches « matrice » ou « bioessais », elles peuvent être réalisées au moyen d'essais mono-spécifiques et/ou pluris-pécifiques. Les détails se rapportant à ces différentes approches sont présentés dans le paragraphe consacré à la présentation des approches utilisées pour la caractérisation des effets écotoxicologiques (paragraphe II.3.22, à la page 77).

Indépendamment de l'approche adoptée pour la caractérisation des effets, la finalité principale de cette étape est de disposer de valeurs de PNEC (Previsible No Effect Concentration) pour chacun des traceurs de risque (si utilisation de l'approche « substances ») ou pour la matrice (si utilisation de l'approche « matrice »).

Si l'approche « substances » a été retenue, une recherche dans les Base de Données Internationales (BDI) permet, normalement, de trouver directement des valeurs de PNEC « pré-définies ». L'INERIS centralise un nombre important de ces informations au niveau de sa base de données environnementales. Les informations disponibles à travers cette BDI proviennent de démarches engagées par différents pays ou organisations internationales ou européennes (Union Européenne, Commission Européenne, OCDE, UNEP, …) ou français (INERIS), pour évaluer les risques environnementaux posés par certaines substances chimiques.

Il existe, cependant, des cas où des valeurs de PNEC « pré-définies » ne sont pas disponibles pour certaines substances. A ce moment, il est possible d'estimer les valeurs de PNEC manquantes au moyen de méthode d'extrapolation. Selon l'abondance et la nature des données disponibles, au moins deux méthodes sont utilisées pour obtenir des valeurs de PNEC à partir des résultats d'essais mono-spécifiques [INERIS, 2003a] :

- la méthode utilisant des facteurs d'extrapolation, lorsqu'un nombre restreint de données est disponible ;
- la méthode statistique, lorsqu'un grand nombre de données est disponible.

La méthode utilisant des facteurs d'extrapolation est celle qui est le plus souvent utilisée et rencontrée dans la littérature. Nous avons choisi de reprendre l'essentiel de cette méthode dans ce document.

Le principe même d'utilisation du facteur d'extrapolation trouve son fondement dans la volonté de vouloir extrapoler les effets obtenus avec quelques espèces à tout un écosystème. Il ressort qu'un certain nombre d'incertitudes est associé à cette démarche. Quelques-uns d'entre eux ont été retracés dans les publications de l'INERIS [1999] et de Forbes et Calow [2002] :

- les variations inter-spécifiques résultant des différences de sensibilité entre les différentes espèces de l'écosystème vis-à-vis d'une substance ;
- les variations intra-spécifiques liées à l'état physiologique des individus d'une même espèce ;
- les variations inter-expérimentateurs et inter-laboratoires ;
- les extrapolations de la toxicité à court terme vers le long terme. Des effets sublétaux peuvent apparaître à long terme et mettre en danger une population, sans que cela ne puisse être détectable à court terme ;
- les extrapolations des données de laboratoire qui ne tiennent pas compte de l'état initial de l'écosystème. Des effets additifs, synergiques ou antagonistes dus à la présence d'autres substances dans le milieu peuvent jouer un rôle et modifier les effets de la substance testée sur la biocénose.

En vue de prendre en compte ces incertitudes, des facteurs d'extrapolation, appelés également facteur de sécurité ou facteurs d'incertitude, ont donc été élaborés. L'importance des facteurs d'extrapolation dépend de la quantité d'informations disponibles pour l'écosystème. Ainsi, si des données d'écotoxicité pour des espèces appartenant à des groupes taxonomiques et des niveaux trophiques différents existent, le facteur d'extrapolation sera plus faible que dans le cas où seulement quelques données sont disponibles [INERIS, 1999]. Plusieurs auteurs, dont l'ECB (European Chemicals Bureau), ont élaborés des propositions en ce sens, ce qui conduit à des facteurs d'extrapolation qui varient en fonction des auteurs [Forbes et Calow, 2002]. Toutefois, il ressort que les facteurs d'extrapolation proposés par l'ECB sont utilisés de façon quasi majoritaire. Le **Tableau 5** synthétise ces différents facteurs.

Tableau 5 : Utilisation des facteurs d'extrapolation dans l'évaluation des PNEC [INERIS, 2003a]

Données écotoxicologiques disponibles	Facteur d'extrapolation
Au moins une CL50 d'un essai court terme pour chacun des trois niveaux trophiques (poissons, invertébrés et algues)	1000
Une NOEC d'un essai long terme (poisson ou invertébrés)	100
Deux NOEC d'essais long terme avec deux espèces représentatives de deux niveaux trophiques (poissons et/ou invertébrés et/ou algues)	50
Trois NOEC d'essais long terme pour au moins trois espèces représentant trois niveaux trophiques (poissons, invertébrés, algues)	10
Données de terrain ou écosystème modèle	Evalué au cas par cas

Cette méthode du facteur d'extrapolation peut être considérée comme une alternative pour trouver des valeurs de PNEC manquantes dans le cadre d'une approche « substances ». Cependant, elle occupe une place importante dans la recherche de valeurs de PNEC dans le cadre de la caractésition des effets sur la base d'une approche « matrice ». Car, dans le cadre d'une approche « matrice » les résultats obtenus restent très liés à la matrice testée (nature de la matirce, mode de préparation, mode de conservation, …) et à la démarche adoptée (nombre d'essai, type de toxicité évaluée, niveaux trophiques représentés au sein des essais mis en œuvre, …). Dès lors, on ne peut recourir à des donner de littérature pour estimer les valeurs de PNEC recherchées.

De ce fait, dans le cas d'une caractérisation des effets selon une approche « matrice », il est possible d'utiliser les recommandations disponibles dans la littérature, notamment celles se trouvant dans le « Technical Guidance Document (TGD) » [C. E., 2003] pour estimer les valeurs de PNEC recherchées. Ce manuel recommande :

- de prendre en compte des résultats de l'espèce la plus sensible ;
- d'appliquer un facteur d'extrapolation (de sécurité) à ce résultat.

L'ensemble de ces informations nous permettent de synthétiser les moyens disponibles pour obtenir les valeurs de PNEC de la manière suivante :

- *pour l'approche « substances » : on peut procéder de deux manières, selon les données disponibles dans la littérature :*
  - *on récupère dans les BDI des valeurs de PNEC « pré-définies » pour chacun des traceurs de risque et pour chaque compartiment étudié (colonne d'eau et/ou sédiment du milieu récepteur) ;*
  - *s'il n'y a pas de valeur de PNEC « pré-définie » dans les BDI pour un traceur donné, il est possible d'estimer cette valeur de PNEC au moyen de la méthode des facteurs d'extrapolation ou de la méthode statistique, selon la quantité de données de toxicité disponibles ;*
- *pour l'approche « matrice » : 1) on retient, pour chaque compartiment étudié (colonne d'eau et/ou sédiment du milieu récepteur), la valeur d'effet la plus faible qui est obtenue, suite à la réalisation des différents essais de toxitié qui avaient été sélectionnés ; 2) on divise chacune de ces valeurs par le facteur d'extrapolation le plus adapté au scénario étudié, sur la base du nombre d'essais qui a été réalisé et des types de toxicité auxquels se rapportent ces essais (aiguë/chronique, niveaux trophiques, plusieurs organismes).*

II.2.43. Caractérisation du risque

La caractérisation du risque consiste à intégrer les renseignements et résultats obtenus au cours de la phase d'analyse afin : i) de parvenir à une estimation de la nature et de l'ampleur du risque ; ii) d'interpréter les risques estimés obtenus. Cette interprétation se fait principalement sur la base de l'incertitude qui est associée aux risques estimés obtenus. Cette phase de caractérisation se finalise par une conclusion et des recommandations portant sur l'ensemble des résultats de l'Evaluation des Risques (EDR) [CEAEQ, 1998].

Au cours de cette phase de caractérisation du risque on confronte donc, le degré de présence du ou des stresseurs et la gravité de leurs effets sur les organismes de l'écosystème cible. A cette fin, on peut utiliser des équations ou des modèles mathématiques pour estimer le risque. Le choix du type de méthode repose sur les contraintes opérationnelles auxquelles l'évaluateur est confronté ou, sur les données dont il dispose. Parmi ces méthodes, on retrouve ([US EPA, 1998] ; [Rivière, 1998] ; [Babut et Perrodin, 2001] ; [Boillot, 2008]) :

- l'approche au moyen d'études *in situ*. Ces études peuvent être réalisées sous réserves, entre autres, d'établir un lien de causalité et seulement dans le cas d'une EDRE rétrospective ;
- les méthodes qualitatives caractérisent le risque en deux ou trois catégories, par exemple fort/faible/moyen, le plus souvent sur la base d'un jugement d'expert [Rivière, 1998]. Elles sont utilisables pour des démarches comparatives (deux types de contamination, par exemple).
- les méthodes de comparaison intégrant l'ensemble des relations stresseurs/réponses permettent d'estimer le niveau de risque associé à un niveau d'exposition donné. Ces méthodes sont particulièrement utiles pour tester plusieurs possibilités de réduction des risques, ou lorsqu'il y a différentes concentrations d'exposition (en fonction du temps ou de la

zone géographique) et/ou d'effet (chronique/aigu) [Solomon *et al.*, 1996] ; [Klaine *et al.*, 1996].

- la méthode du quotient compare l'estimation de l'exposition au(x) polluant(s) à celle d'absence d'effets sur les écosystèmes cibles et est éventuellement associée à une fourchette d'incertitude.

La majorité des études d'évaluation des risques réalisées ont priorisé l'utilisation des méthodes les plus simples pour l'estimation du risque. Mais, actuellement, il y a un intérêt croissant qui se développe autour de l'utilisation des méthodes probabilistes [Suter II, 2006]. Nous avons choisi de présenter les grandes lignes de l'une des méthodes les plus utilisées, la méthode du quotient, dans les prochains paragraphes.

La méthode du quotient en évaluation des risques écologiques ou écotoxicologiques se base sur le même principe utilisé en évaluation des risques sanitaires, pour calculer les indices de risque (*Hazard Index*) [Rivière, 1998]. Cette méthode aboutit au calcul d'un Indice de Risque (IR) qui peut être appliqué à différentes approches de caractérisation des effets. L'IR se calcule au moyen de l'équation suivante :

$$IR = \frac{\text{valeur de caractérisation de l'exposition}}{\text{valeur d'absence d'effet}}$$

Sur la base des valeurs obtenues pour IR, on peut distinguer les cas où les milieux récepteurs sont [Donguy et Perrodin, 2007] :

- compatibles avec les usages constatés sans exposer les écosystèmes cibles à des niveaux de risques excessifs : le risque est dit « acceptable » lorsque IR ≤ 1 ;
- incompatibles avec les usages constatés et que les écosystèmes cibles sont exposés à des niveaux de risques excessifs : le risque est dit « inacceptable » lorsque IR > 1.

Le Tableau 6 illustre la possibilité d'appliquer le calcul de l'Indice de Risque à une EDR conduite sur la base d'une approche « substances » ou à une EDR conduite selon une approche « matrice ».

Tableau 6 : Modalités de calcul de l'Indice de Risque (IR) pour les approches substances et bioessais (tiré de [Donguy et Perrodin, 2007])

Approche	Exposition	Effets	IR
Substances	**PEC (mg/L, mg/kg)** valeurs qui peuvent être issues de mesure sur site ou de données connues ou obtenues par modélisation	**PNEC (mg/L mg/kg)** valeurs pouvant provenir de Fiches INERIS ou être calculées à partir des bases de données d'écotoxicologie et des règles du TGD	$\frac{PEC}{PNEC}$
Bioessais	**% matrice source** (effluent, déchet, sol, etc.) **dans le milieu récepteur** (sol, rivière, lac, etc.)	**% matrice créant un effet**	$\frac{\%\,\text{matrice dans le mileu}}{\%\,\text{matrice sans effet}}$

La méthode du quotient, en plus d'être simple, elle peut également être qualifiée de rapide et conduit à des résultats dont l'interprétation est relativement simpliste. La forme de présentation des résultats facilite également leur communication. Cependant, cette méthode est considérée comme une manière assez sommaire de caractériser les risques, eu égard aux simplifications sur lesquelles elle repose . On peut notamment citer les remarques suivantes [US EPA, 1998] ; [Babut et Perrodin, 2001]) :

- l'exposition et les effets sont, chacun, simplifiés à une seule valeur, ce qui peut masquer des biais conceptuels, par exemple la fluctuation de la concentration d'exposition ;
- les effets indirects (eutrophisation, biomagnification[11], …) ne peuvent pas facilement être pris en compte ;
- la prise en compte de contaminations multiples ne pourra se faire qu'en considérant que les toxicités sont additives.

II.3. LES TECHNIQUES UTILISEES DANS LA PHASE D'ANALYSE

II.3.1. Caractérisation de l'exposition et outils existants

La caractérisation de l'exposition peut être faite par voie directe ou par voie indirecte (au moyen de la modélisation). Nous présentons, dans les paragraphes suivants, des éléments d'informations relatives à quelques outils qui permettent de procéder à la caractérisation de l'exposition.

II.3.11. Observation

Elle repose sur la réalisation de mesures *in situ*, dans le milieu exposé au stresseur ou à des stresseurs.

II.3.12. Expérimentation

Cette approche repose sur la conduite d'essais en laboratoire, au moyen d'échantillons prélevés sur le terrain ou de tentative de reconstruction de situations existantes. A titre d'exemple, on peut citer :

- la réalisation de tests en colonne pour évaluer le transfert des polluants dans le contexte du bilan hydrique du site d'étude ;
- les études en microcosmes ou en mésocosmes.

II.3.13. Modélisation

La modélisation est un outil qui peut être utilisé en vue de procéder à certains calculs théoriques, car, par définition, un modèle est « une représentation simplifiée d'une réalité complexe qui permet de

[11]Biomagnification : accumulation d'une substance dans les différents organismes de la chaîne trophique, avec augmentation de la concentration de cette substance à chaque étage de la chaîne trophique. On parle également de bioamplification [Donguy et Perrodin, 2007].

simuler et parfois d'extrapoler cette réalité » [MEDD, 2000] ; [Donguy et Perrodin, 2007] ; ce qui nécessite une bonne calibration des modèles et un grand effort d'optimisation de ces derniers. Pour comprendre certains aspects des problématiques étudiées, la modélisation se positionne, parfois, en élément indispensable. Parmi les applications possibles de cet outil dans l'étape de caractérisation de l'exposition, on peut citer [Babut et Perrodin, 2001] ; [Perrodin, 2006] ; [Suter II, 2006] :

- la réalisation du bilan hydrique du site sur la base des donnéees issues de l'étude hydrogéologique du site ;
- la dynamique de transfert des polluants dans les milieux poreux ;
- la biodégradation des contaminants ;
- la bioaccumulation des contaminants ;
- l'étude de la toxicocinétique des polluants ;
- …

Certains logiciels développés à des fins de gestion de réseaux, d'infrastructures hydrauliques ou dans le domaine de l'étude des sols, peuvent également contribuer à l'acqusition d'une partie des données nécessaires à l'étape de caractérisation de l'exposition des cibles. Le but principal de cette partie n'étant pas de faire une description fine de ces différents modèles, nous invitons, de ce fait, le lecteur à se référer à la littérature existante sur ces derniers pour connaître leurs spécificités. Comme modèles existants et appartenant à cette catégorie, on peut citer de façon non exhaustive [Donguy et Perrodin, 2007] : Visual MODFLOW (du US Geological Survey), HYDRUS (US Salinity Laboratory), MARTHE (BRGM), MOFAT (US EPA), CANOE-HYDRO (INSA de Lyon et SOGREAH), …

Pour ce sujet de recherche, on peut citer, sans être exhaustif, les modèles existants ou les groupes de travail suivants : le logiciel TERRASYS (SANEXEN), CALTOX (Lawrence Berkeley National Laboratory), AQUATOX (US EPA), le programme de recherche ECODYN, les modèles dits de Mackay, le modèle GREAT-ER, …

II.3.2. Caractérisation des effets écotoxicologiques et approches utilisées

II.3.21. Généralités sur la caractérisation des effets écotoxicologiques

La caractérisation des effets écotoxicologiques d'un échantillon consiste à mettre en évidence sa capacité à avoir des effets (généralement néfastes) sur les organismes du milieu récepteur considéré. La principale finalité de cette caractérisation est de parvenir à évaluer la ou les valeurs de PNEC pour l'échantillon concerné.

En effet, il est désormais admis que le contenu chimique total ou extractible ne renseigne pas, de façon systématique, sur la toxicité vis-à-vis des organismes vivants. Il est également reconnu que les actions combinées liées à la présence de mélanges de polluants (ex : effets de synergie et/ou d'antagonisme) ne peuvent être prévues à partir d'une liste (même très détaillée) de ces polluants. L'utilisation d'essais sur organismes biologiques peut contribuer à répondre à ces besoins [ADEME, 2005a].

On peut procéder à cette caractérisation au moyen de deux approches complémentaires : soit on considère l'échantillon comme un tout indivisible, donc une « matrice », soit on l'approche en fonction de ses différentes composantes. Les caractéristiques ainsi que les avantages, les limitations et l'applicabilité de chacune de ces deux approches sont synthétisés dans un guide élaboré par l'ADEME [2005b].

La Figure 7 est une version légèrement modifiée de la synthèse faite par Boillot [2008], en ce qui concerne les approches permettant de caractériser les effets d'un échantillon donné.

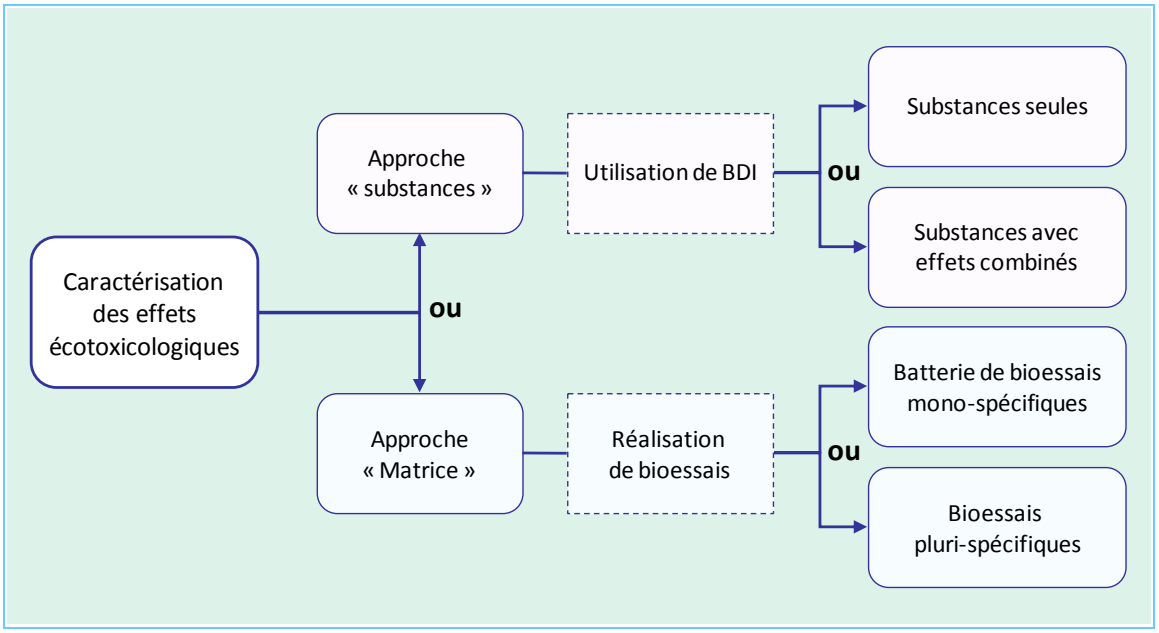


Figure 7 : Stratégies de caractérisation des effets écotoxicologiques d'après [Boillot, 2008] (version modifiée) ; (BDI : Bases de Données Internationales)

Les paragraphes suivants présentent succinctement les principales caractéristiques de ces deux approches. Chacune d'elles peut, à son tour, être abordée suivant deux stratégies.

II.3.211. Les approches « substances »

Les approches « substances » impliquent deux stratégies complémentaires qui font appel à l'analyse physico-chimique de la matrice polluante concernée en vue de déterminer les polluants qu'elle contient. Certains *scenarii* peuvent nécessiter de connaître les caractéristiques microbioliques de la matrice polluante. Ces polluants sont les « stresseurs » à partir desquels on réalisera la caractérisation des effets de la matrice étudiée. Un nombre important de stresseurs peut être mis en évidence dans une matrice polluante, cependant il est admis de procéder au choix de certains stresseurs qui joueront alors le rôle de « traceurs de risque ». Le choix des traceurs découle d'un consensus permettant de retenir un ensemble de polluants pertinents et/ou spécifiques au scénario étudié. Ces traceurs de risque peuvent, par conséquent, être de natures diverses : inorganiques, organiques, biologiques, …

Une fois les traceurs de risque identifiés, les informations disponibles sur les effets écotoxicologiques sont recherchées pour chacun de ces traceurs dans des bases de données internationales (BDI). Dans la littérature, l'approche par substance individuelle, dite « substances seules » est également dénommée « approche substances ».

On peut également recourir à l'approche « substances avec interactions ou effets combinés », qui peut être considérée comme une « optimisation » de l'approche « substances » classique puisqu'elle intègre également les interactions qui peuvent exister entre les différents stresseurs identifiés dans la matrice polluante concernée.

En principe, l'estimation des valeurs de PNEC par les approches « substances » ne nécessite pas la réalisation d'essais en laboratoire. Les essais peuvent cependant être nécessaires, en particulier en ce qui concerne l'approche « substances avec effets combinés ». En effet, il n'est pas certain de toujours trouver dans les BDI les données qui portent sur les effets d'interaction provenant de la présence simultanée des stresseurs identifiés.

II.3.212. L'approche « matrice »

L'approche « matrice » requiert obligatoirement la mise en œuvre d'essais écotoxicologiques en vue d'apprécier les effets d'une matrice sur des organismes. Pour mettre en évidence ces effets, il est possible d'utiliser différents niveaux d'organisation biologique et différentes échelles d'expérimentation. Ainsi, on peut sélectionner un certain nombre de bioessais mono-spécifiques qui constitueront ce qu'on appelera une « batterie de bioessais mono-spécifiques », tout comme on peut recourir à des « bioessais pluri-spécifiques ».

La notion de batterie de « bioessais mono-spécifiques » fait référence à différents bioessais (normalisés ou non) réalisés séparément sur la même matrice. Les « bioessais pluri-spécifiques » font intervenir plusieurs espèces d'organismes mais simultanément au contact de la matrice, avec des niveaux d'organisation écologiques supérieurs.

L'analyse physico-chimique de la matrice polluante étudiée ne joue donc plus le rôle prépondérant qui lui est attribué dans les approches « substances » pour l'estimation des valeurs de PNEC. Néanmoins, la caractérisation physico-chimique de la matrice apporte des informations complémentaires sur les concentrations en éléments potentiellement toxiques présents dans cette matrice.

II.3.22. Approches utilisées pour la caractérisation des effets écotoxicologiques

Tel que spécifié dans les généralités (voir paragraphe II.3.21, page 75) sur la caractérisation des effets écotoxicologiques, cette étape de la phase d'analyse peut donc être conduite par les stratégies d'approche suivantes : « substances (seules) », « substances avec effets combinés », « batterie de bioessais mono-spécifiques » et « bioessais pluri-spécifiques ».

Une présentation s'ensuit, à travers les prochains paragraphes, pour chacune de ces stratégies d'approche.

II.3.221. L'approche « substances (seules) »

L'approche « substances seules », que l'on nommera approche « substances » par la suite dans le reste du document, constitue la manière la plus classique permettant de caractériser les effets écotoxicologiques. Cette approche se décline en trois étapes successives qui sont présentées au moyen de la Figure 8.

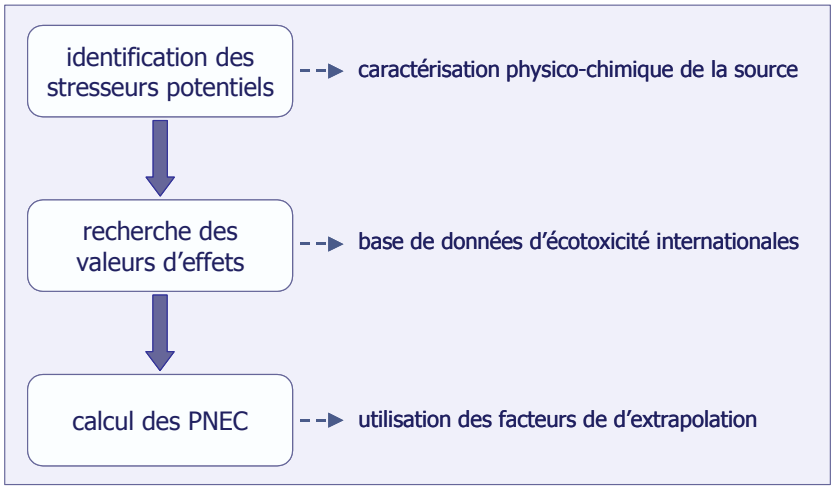


Figure 8 : **Les étapes et les outils associés à l'approche « substances » [Boillot, 2008]**

Etape 1 : Identification des stresseurs potentiels

Cette étape d'identification des stresseurs potentiels, appelés également traceurs de risque, requiert la caractérisation physico-chimique de l'échantillon ou de l'effluent concerné. Dans tous les cas, la difficulté réside dans le choix des paramètres à analyser, qui apparaît primordial à la détermination des stresseurs (risque d'écarter un stresseur potentiel). Le choix des polluants traceurs prend en compte la volonté de couvrir une gamme de polluants spécifiques et diversifiés (organiques ou minéraux, chimiques ou biologiques…) relative au scénario étudié. Il est également important de sélectionner des polluants agissant par le biais des différentes voies d'exposition présentes dans le scénario [Perrodin *et al.*, 2004]. Cette première étape peut être conduite en amont de la démarche d'évaluation des risques.

Etape 2 : Recherche des valeurs d'effet

L'activité principale à mener au cours de cette étape, est une recherche approfondie des données de toxicité disponible pour chacun des traceurs de risque retenus. Cette recherche pourra être effectuée au moyen des Bases de Données Internationales (dont une liste non exhaustive est présentée en annexe de ce document : Annexe I). Les logiciels spécialisés ainsi que la littérature scientifique peuvent être intégrés parmi les sources à consulter.

Etape 3 : Calcul des valeurs de PNEC

L'étape 3 qui boucle cette approche consiste à estimer les valeurs de PNEC pour chacun des traceurs de risque retenus. Elle peut être abordée de deux manières, selon les résultats obtenus au terme de l'étape précedente. En effet, si :

- la recherche des valeurs d'effet (étape2) conduit à trouver directement des valeurs de PNEC, dans ce cas on considère que l'étape 3 est achevée ; sinon,
- au terme de la recherche des valeurs d'effet (étape 2), on obtient des résultats d'essais d'écotoxicité pour les traceurs de risque, on procède alors à l'estimation des valeurs PNEC en divisant la valeur d'effet obtenue pour l'organisme le plus sensible pour chaque stresseur par un facteur d'extrapolation tiré du Tableau 5 (voir page 71). Cette activité met fin à l'étape 3.

L'approche « substances » est souvent critiquée à cause du fait qu'elle ne prend pas en compte les interactions qui existent entre les différents traceurs de risques lorsqu'ils sont en mélange. Une autre reproche qui est également formulée à l'endroit de cette approche réside dans le fait qu'il n'intègre pas ou qu'il n'intègre que partiellement la biodidiponibilité des substances présentes dans l'échantillon concerné. Cependant, elle permet quand même d'avoir une première appréciation de la situation.

II.3.222. L'approche « substances avec effets combinés »

Cette approche constitue une optimisation de l'approche « substances ». En effet, l'approche « substances avec effets combinés » intègre l'une des principales critiques formulées à l'endroit de l'approche « substances », qui porte sur les interactions possibles entre les substances présentes dans l'échantillon étudié.

Plusieurs études mettent l'accent sur le fait que les activités anthropiques génèrent un nombre importants de polluants différents qui vont atteindre le milieu récepteur et qui constitueront dès lors un mélange de substances auquel les organismes de ce milieu récepteur seront exposés. Dans d'autres situations, c'est déjà un mélange de polluants qui aboutit au milieu récepteur. Ces situations font ressortir les limites de l'approche « substances » qui ne tient pas compte de l'exposition simultanée à deux ou plusieurs substances toxiques. Cette co-existence de deux ou plusieurs polluants peut modifier l'expression de leur toxicité [Ramade, 2007].

En vue d'en tenir compte, une attention particulière est accordée à la nécessité de prendre en compte l'étude des effets combinés de polluants en mélange et de son implication dans différents domaines, dont l'EDRE.

II.3.2.2.2.1. Généralités et terminologie

Dans le cas d'une co-existence de deux ou plusieurs polluants, leur assimilation peut s'effectuer par des processus compétitifs ou non compétitifs et trois cas de réponse de l'organisme ou des organismes exposé(s) sont possibles : l'additivité (additivity), la synergie (synergism) et l'antagonisme (antagonism), qui sont représentés au moyen de l'exemple sur la **Figure 9**.

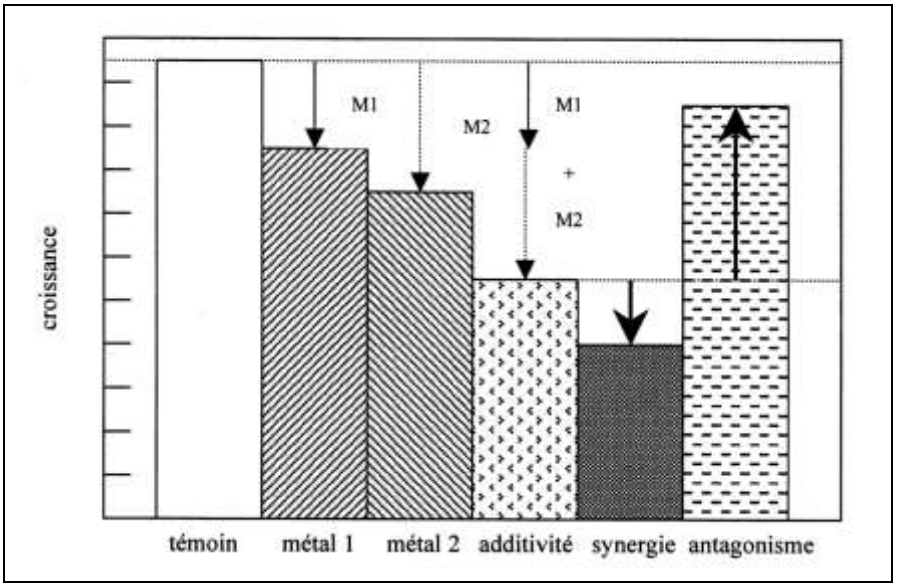


Figure 9 : **Exemple des trois réponses possibles en terme d'inhibition de la croissance d'une algue soumise au stress de mélanges de deux métaux (M_1 et M_2) par rapport à un témoin [Jan Stevenson *et al.*, 1996]**

L'étude des effets combinés a justement pour objectif de déterminer la nature de ces réponses, de ces interactions. Le domaine le plus spécifique de l'écotoxicologie se ramène justement à l'étude de ces phénomènes vis-à-vis d'organismes qui subissent une exposition simultanée à des mico-doses de plusieurs voir d'un grand nombre de polluants toxiques qui contaminent en permanence l'environnement [Ramade, 2007].

Dans la littérature, les mélanges sont généralement classés en deux grandes catégories : (i) celle des mélanges simples quand les composés de ces mélanges sont identifiés (quantitativement et qualitativement) et en nombre limité (inférieur ou égal à 10) et (ii) la catégorie des mélanges complexes quand les composés de ces mélanges ne peuvent être complètement identifiés (quantitativement et qualitativement) et qu'ils sont en nombre important (supérieur à 10). Pour cette dernière catégorie de mélanges, il est préconisé d'isoler une dizaine des constituants les plus toxiques pour parvenir à un mélange simple défini. Le mélange est ensuite traité en tant que tel, sans omettre les risques d'incertitudes plus importants dus aux interactions possibles [Feron *et al.*, 1995] ; [Feron *et al.*, 1998] ; [Feron et Groten, 2002]. La majeure partie des études des effets combinés rencontrées dans la littérature porte davantage sur des mélanges de deux polluants vis-à-vis d'un organisme test. Ce qui, selon Deneer [2000] facilite une meilleure compréhension des phénomènes en jeu.

Les principaux concepts et théories d'étude de l'écotoxicologie des mélanges proviennent de ceux en vigueur dans l'étude de ces mêmes phénomènes en toxicologie. Le premier concept a été établi par Loewe et Muischnek [1926], et se base sur le fait que lorsque des substances sont en mélange, les concentrations d'effets s'additionnent [Greco *et al.*, 1995]. Puis, Bliss a introduit en [1939] la notion de « site d'action » des substances (sur les organismes) [Boillot, 2008].

Les théories associées à chacun de ces deux concepts sont les suivantes :

- en ce qui concerne l'addditivité : Les effets sont dits de nature additive quand une substance agit comme une dilution de l'autre, c'est à dire que l'écotoxicité du mélange est proportionnelle à l'écotoxicité et à la concentration des substances en mélange [Altenburger *et al.*, 1990] ;
- en ce qui concerne les sites d'action : Cette théorie repose sur l'étude des modes et mécanismes d'action des substances, qui sont responsables de la manière spécifique par laquelle une substance va induire un effet sur un organisme [Suter II, 2006]. A ce titre, on considère que les substances agissent sur un ou plusieurs sites d'action pour produire un ou plusieurs effets (inhibition d'une enzyme, inhibition d'une activité musculaire, etc.). De ce fait, une substance peut agir et produire un effet de manière indépendante au sein d'un mélange. Chacune des substances contribue alors à une réponse ou à un effet global [Boillot, 2008].

II.3.2.2.2.2. Classification des effets combinés de substances en mélange

La première classification des effets combinés a été établie par Bliss [1939], sur la base des modes d'action des substances en mélange [Jonker, 2003]. La classification proposée définit trois principaux types de modes d'action, qui sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 7).

Tableau 7 : Classification des interactions de substances en mélange (proposition de : [Bliss, 1939])

Independent joint action	Similar joint action	Synergistic action
Les constituants agissent sur des sites d'actions différents et la réponse biologique d'un constituant n'est pas influencée par celle d'un autre	Les constituants agissent de manière indépendante sur les mêmes sites d'actions et la réponse biologique d'un constituant n'est pas influencée par un autre	La réponse d'un mélange ne peut pas être appréhendée par les réponses isolées des constituants et dépend des effets combinés de ceux-ci

Ne reprenant que la classification proposée par Bliss [1939], Plackett et Hewlett [1952] sont également parvenus à une autre classification (Tableau 8, [Suter II, 2006] ; [Samoura, 2004] ; [INERIS, 2006a]) qui présentent d'autres descripteurs des effets combinés qui peuvent être mis en évidence pour des mélanges de substances. Sur la base des variantes proposées, ils ont aboutit à quatre grands types d'effets combinés.

Tableau 8 : Classification des interactions de substances en mélange (adaptation de la proposition de [Plackett et Hewlett, 1952])

	Similar joint action (effets analogues ou action similaire)	**Dissimilar joint action (effets non analogues ou actions dissemblable)**
Non-interactive (sans interaction)	**Simple similar joint action** (similitude simple ou concentration addition = additivité des concentrations)	**Independent joint action** (Indépendance ou réponse addition = additivité des effets)
Interactive (avec interaction)	**Complex similar joint action** (Analogue de manière complexe synergie ou antagonisme)	**Dependent joint action** (Dépendance synergie ou antagonisme)

Dans ce tableau [Warne, 2003] :

- « simple similar joint action » signifie que les substances agissent sur le même site d'action et que la réponse biologique d'une substance n'est pas influencée par la réponse de l'autre substance ou des autres substances ;
- « independent joint action » signifie que les substances agissent sur des sites d'action différents et que la réponse biologique d'une substance n'est pas influencée par la réponse de l'autre substance ou des autres substances ;
- « complex similar joint action » et « dependent joint action » indiquent qu'il y a au moins une des substances du mélange qui influence la réponse biologique de l'autre substance ou des autres substances. Dans ces cas, « complex similar joint action » réfère à des substances qui, en plus, agissent sur le même site d'action, tandis que « dependent joint action » réfère à des substances qui agissent sur des sites d'action différents. Dans l'un ou l'autre de ces deux cas ont peut observer une synergie ou un antagonisme.

Il ressort de tout cela une certaine confusion qui est principalement liée au nombre important de termes qui sont utilisés pour décrire l'écotoxicité des mélanges, ce qui affecte le bon développement de ce domaine d'étude. Selon Calabrese [2008], une grande variété de termes sont utilisés par différents auteurs pour décrire des phénomènes qui semblent être les mêmes, mais ces termes sont assez souvent employés différemment selon les auteurs [Warne, 2003]. Quelques exemples des termes utilisés sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Exemples de différents termes les plus utilisés pour décrire différents types d'interactions (de [Marking, 1985] et adapté par [Warne, 2003])

Synergism	Additive	Antagonism
Greater than additive	Expected action	Less than additive
Supra-additive	Simple addition	Infra-additive
Potentiation	Additive action	Competitive addition
Positive summation	Summation	Competitive antagonism
Joint action	Joint action	Joint action
Interaction	Interaction	Interaction

II.3.2.2.2.3. Méthodes de détermination de la nature des effets combinés de substances en mélange

Sur la base de la bibliographie disponible sur l'étude des effets combinés et en prenant en compte la classification de Plackett et Hewlett [1952] sur les sites d'action, on peut regrouper les méthodes et modèles disponibles en deux groupes :

- Même site d'action : (i) le modèle « Concentration Addition » dénommé « CA » ; (ii) le modèle des Toxic Unit (TU) ; (iii) la représentation isobolographique ; (iv) le modèle des Toxicity Index « TI » ou Hazard Index « HI ».
- Site d'action différents : le modèle « Independent Action » dénommé « IA » ;

Il existe également une autre approche développée par Warne et Hawker qui est celle de l'hypothèse de l'entonnoir (The funnel hypothesis). Cette méthode soutient que plus le mélange est complexe (i. e., plus le nombre de substances dans le mélange augmente) plus la toxicité tend vers l'additivité [Warne et Hawker, 1995] ; [Warne, 2003] ; [Samoura, 2004]. Ce modèle, spécifique aux mélanges complexes, ne sera pas développé dans ce document car notre étude des effets combinés ne portera pas sur des mélanges complexes.

A) Même site d'action

i) *Le modèle CA ou Concentration Addition*

Développé par Loewe et Muischnek [1926], le modèle CA (Concentration Addition) repose sur le principe suivant : « dans la mesure où les substances agissent sur le même site d'action, chacune d'elle intervient dans la toxicité du mélange proportionnellement à sa concentration ». Ce modèle permet d'estimer la réponse globale d'un mélange au moyen d'une courbe dose-réponse. Le modèle CA a, certes, été développé pour des mélanges de substances agissant sur les mêmes sites d'action, il est pourtant considéré comme une « approche générale par défaut » permettant d'étudier les mélanges constitués par un nombre important de susbtances indépendamment du mode d'action suivant lequel ces susbstances agissent [Berenbaum, 1985] ; [Faust *et al.*, 2001] ; [Suter II, 2006].

L'équation générale associée au modèle CA, sur la base d'un nombre « n » de susbstances dans le mélange, est la suivante :

$$CEx_{mix} = \left(\sum_{i=1}^{n} \frac{p_i}{CEx_i} \right)^{-1}$$

où : CEx_{mix} = concentration du mélange induisant x% d'effet

CEx_i = concentration de la substance « i » induisant x% d'effet, avec « i » variant de 1 à « n »

p_i = proportion de la substance « i » dans le mélange, avec « i » variant de 1 à « n ». Elle est calculée au moyen de l'équation qui suit :

$$p_i = C_i / C_{mix}$$

où : C_i = concentration de la substance « i » dans le mélange

C_{mix} = concentration totale du mélange avec $C_{mix} = \sum C_i$

ii) *Le modèle des TU*

Ce modèle a été introduit par Brown [1968] et Sprague [1970] et il constitue une approche d'analyse quantitative des effets combinés des substances en mélange. Il se base sur l'additivité des concentrations des substances dans le mélange. Le modèle des TU permet aussi d'estimer la déviation des effets combinés par rapport à l'additivité des concentrations et sur la base d'une valeur d'effet donné [EIFAC, 1980] ; [Hermens et Leeuwangh, 1982] ; [Warne, 2003]. La CE_{50} étant la valeur d'effet la plus couramment calculée, les calculs de TU sont généralement effectués en utilisant cette valeur d'effet [Jonker, 2003]. Les valeurs de TU obtenues sont adimensionnelles et peuvent être exploitées au moyen de la représentation isobolographique ou bien par le modèle des TI [Warne et Schifko, 1999].

L'équation générale permettant d'estimer les valeurs de TU pour une substance « i » s'écrit de la manière suivante :

$$TU_i = C_i / CEx_i \quad \leftrightarrow \quad TU_i = p_i * C_{mix} / CEx_i$$

où : TU_i = Toxic Unit de la substance « i »

C_i = concentration de la substance « i » dans le mélange

CEx_i = concentration de la substance « i » induisant x% d'effet

p_i = proportion de la substance « i » dans le mélange

C_{mix} = concentration totale du mélange avec $C_{mix} = \sum C_i$

En vue d'apprécier les effets combinés des substances qui constituent le mélange, vis-à-vis de l'organisme test, on procède à la sommation des valeurs de TU. Si ([Warne et Schifko, 1999] ; [Warne, 2003]) :

∑TU = 1 : les effets combinés sont de type additif

∑TU > 1 : les effets combinés sont de type antagoniste

∑TU < 1 : les effets combinés sont de type synergie

L'application des principes de ce modèle a permis de découvrir que pour certains mélanges le type d'effets combinés observé (additivité, antagonisme, synergie) depend des ratios des substances dans le mélange [Yang, 1994] ; [Warne, 2003].

iii) *La représentation isobolographique*

La méthode des isoboles ou la représentation isobolographique est très utilisée dans le domaine de l'étude des effets combinés de deux substances vis-à-vis d'un organisme. Sa paternité est attribuée à Sprague [1970] et consiste en une représentation graphique bidimensionnelle des données de toxicité au moyen d'un isobologramme (**Figure 10**). Cette approche permet d'apprécier les effets combinés sur la base de différents ratios des substances constituant le mélange. Les données de base nécessaires à la construction de ce graphique sont les différentes valeurs de TU calculées pour les différentes proportions (différents ratios) testé(e)s vis-à-vis de l'organisme test. La **Figure 10** constitue un exemple, dans le cas d'un mélange de deux substances A et B (mélange binaire), où l'axe des abscisses et l'axe des ordonnées représentent les valeurs de TU relatives de chaque substance.

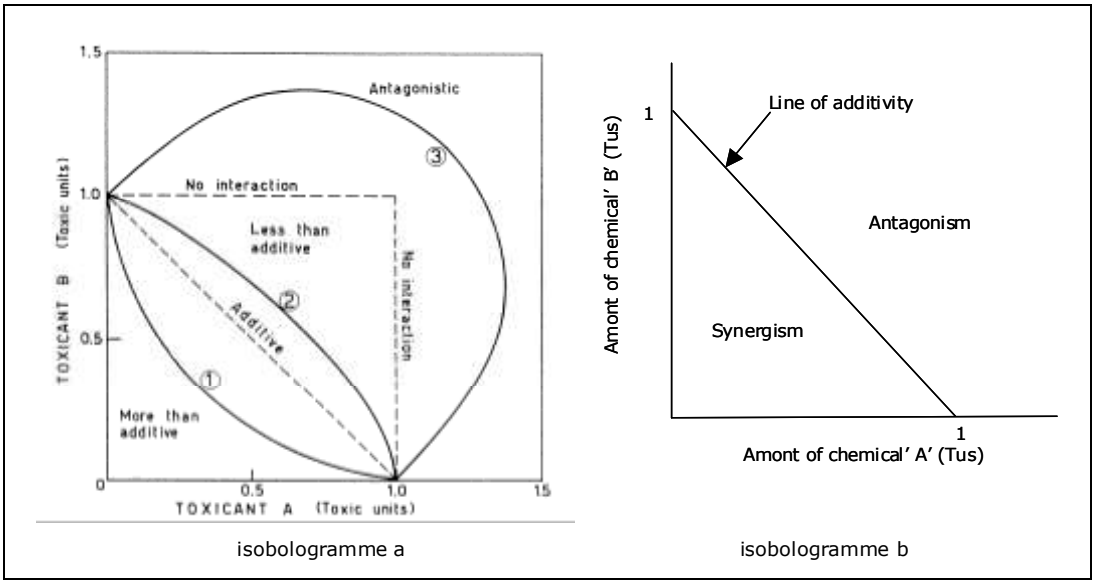


Figure 10 : **Exemples d'isobologrammes : (a) "de compréhension" [Calamari et Alabaster, 1980] ; (b) : "qualitatif" [Warne, 2003]**

Deux approches peuvent être utilisées pour interpréter les isoboles : une première approche qui peut être qualifiée « d'approche de compréhension » (isobologramme a) et une seconde approche

que l'on peut appeler « approche qualitative » (isobologramme b). Les principales caractéristiques de ces deux approches sont les suivantes [Boillot, 2008] :

- Approche de compréhension (isobologramme a) : elle est la plus complexe des 2 approches et tente de comprendre les mécanismes d'action entre les substances et l'organisme test [Sprague, 1970] ; [Herbes et Beauchamps, 1977] ; [Herbes et Beauchamps, 1977] ; [Otitoloju, 2002] ; [Jonker, 2003] ;
- Approche qualitative (isobologramme b) : cette seconde approche est plus simple, facile à lire et à interpréter. Elle permet de décrire le caractère de la réponse toxique finale d'un mélange de substances, testé au moyen de différents ratios de ces substances dans le mélange, vis-à-vis de l'organisme test [Yang, 1994] ; [Kortenkamp et Altenburger, 1998] ; [Groten *et al.*, 2001] ; [Warne, 2003]. L'isobologramme b de la **Figure 10** se lit de la manière suivante :
  - si les effets sont additifs, la courbe obtenue est une droite ;
  - si les effets sont des synergies, on obtient une courbe en bas et à gauche de cette droite, et ;
  - si les effets sont antagonistes, on obtient une courbe en haut et du côté droit de la droite d'additivité.

iv) *Le modèle des TI (Toxicity Index) ou HI (Hazard Index)*

Les premiers chercheurs qui ont contribué au développement de ce modèle sont Marking [1977] et Belkhadir [1979]. Le modèle des TI, ou « combination index (I_c) » ou « Hazard Index (HI) », est alimenté par les résultats des calculs du modèle des TU. Il permet de dégager les caractéristiques générales des interactions dans un mélange de deux ou plusieurs substances [Yang, 1994] ; [Emmanuel, 2004].

L'équation générale permettant d'estimer les valeurs de TI est la suivante :

$$TI = \sum_{i=1}^{n} TU_i$$

où : TI = Toxicity Index

TU_i = Toxic Unit de la substance « i », avec « i » variant de 1 à « n »

Suite à ce calcul, si :

TI = 1 : les effets combinés sont de type additif

TI > 1 : les effets combinés sont de type antagoniste

TI < 1 : les effets combinés sont de type synergie

Cependant, on retrace dans la littérature des auteurs qui proposent, sur la base de leurs travaux respectifs, d'élargir la limite qui permet de conclure à des effets combinés de type additif (TI = 1) : la EIFAC [1980] propose que les valeurs de TI appartiennent à l'intervalle [0,5 ; 1,5] et Deneer [2000] propose que les valeurs de TI appatiennent à l'intervalle [0,5 ; 2,0].

B) Sites d'action différents

Le modèle IA ou Independent Action

La paternité du modèle IA (Independent Action) est attribuée à Bliss [1939]. Le modèle IA permet de visualiser la réponse globale d'un mélange au moyen d'une courbe dose-réponse. Ce modèle est également appelé « modèle d'addition des réponses ». L'IA repose sur une « *dissimilar action* (action sur des sites différents et de façon indépendante) » des substances en mélange [Faust *et al.*, 2001] ; [Backhaus *et al.*, 2003] ; [Cleuvers, 2003] ; [Suter II, 2006]. Par conséquent, si on prend la mortalité comme critère d'effet, un organisme mourra des effets de la substance en mélange à laquelle il est le plus sensible en terme de concentration [Suter II, 2006]. Le modèle IA assume, également, que les substances qui, au sein d'un mélange, sont en concentration inférieure à leur concentration d'effet, ne contribuent pas à la toxicité globale du mélange [Backhaus *et al.*, 2003] ; [Cleuvers, 2003] ; [Samoura, 2004].

L'équation générale associée au modèle IA, sur la base d'un nombre « n » de susbstances dans le mélange, est la suivante :

$$E(C_{mix}) = E(C_1 + C_2 + \ldots + C_n) = 1 - \prod_{i=1}^{n} \left(1 - E(C_i)\right)$$

où : C_i = concentration de la substance « i » dans le mélange, avec « i » variant de 1 à « n »

$E(C_{mix})$ = effets du mélange des « n » substances

$E(C_i)$ = effets de la substance « i » seule testée à une concentration « C_i »

Le modèle IA est très utilisé en étude des effets combinés de substances en mélange et, le plus souvent, en parallèle avec le modèle CA (Concentration Addition) qui a été présenté précédemment. La comparaison entre ces deux modèles (CA et IA) permet de déterminer *a posteriori*, les modes d'action de substances au sein du mélange étudié [Altenburger *et al.*, 2000] ; [Walter *et al.*, 2002] ; [Backhaus *et al.*, 2003] ; [Vighi *et al.*, 2003] ; [Lin *et al.*, 2004] ; [Boillot, 2008].

II.3.2.2.2.4. Quelques données de littérature sur des effets combinés observés vis-à-vis de différents organismes tests

Selon les auteurs et selon les objectifs visés par la conduite de l'étude on aboutit à des approches différentes d'expression des résultats des effets combinés. Les auteurs utiliseront un modèle ou peuvent coupler certains des modèles présentés précédemment, pour étudier la nature des effets combinés observés. Otitoloju [2002], en utilisant les isobologrammes pour mettre en évidence des effets combinés de mélanges binaires de métaux vis-à-vis de *T. fuscatus* au moyen d'une relation (RTU) établie entre la LC_{50} prédite et la LC_{50} expérimentale (RTU = LC_{50} prédite/LC_{50} expérimentale), a pu mettre en évidence des cas de synergie (pour RTU = 1,14) et des cas d'antagonisme (RTU = 0,10) vis-à-vis de cet organisme. La EIFAC [1980] a conduit une étude au cours de laquelle la toxicité de 76 mélanges a été examinée sur le poisson et elle a trouvé des TI compris entre 0,4 et 26 ; 87% de ces valeurs de TI appartenaient à l'intervalle [0,5 ; 1,5]. Suter [2006] soutient que la plupart des études

montre des cas d'antagonisme mais il fait quand même remarquer qu'il existe également des cas de synergie. De plus, il souligne que suivant le type d'exposition (aiguë ou chronique), les substances mettent en jeu des mécanismes d'action différents. Deneer [2000], suite à l'étude qu'il a réalisé et qui portait sur les résultats de plus de 200 mélanges binaires de pesticides, a conclu que 90% des mélanges répondraient au principe d'additivité des concentrations et que les déviations tendraient plus dans le sens d'une augmentation que dans celui d'une diminution des effets.

On constate également, à travers la littérature existante, un intérêt croissant sur les stratégies à mettre en place en vue d'intégrer cet aspect dans les méthodologies d'EDRE, surtout en ce qui concerne la synergie et l'antagonisme : [Chapman *et al.*, 1998] ; [Otitoloju, 2003] ; [Suter II, 2006] ; [Perrodin, 2006] ; [Ragas, 2008].

II.3.223. L'approche « batterie de bioessais mono-spécifiques »

II.3.2.2.3.1. Les bioessais mono-spécifiques

Les bioessais mono-spécifiques sont des tests conduits en laboratoire au cours desquels une population (homogène) d'organismes aquatiques est exposée à un polluant dont on veut estimer la toxicité afin d'évaluer les niveaux de concentration provoquant des effets toxiques (mortalité, baisse de reproduction, baisse de respiration, …). Ces essais sont menés dans des conditions contrôlées de lumière, température, milieu de culture ou support d'élevage, ce qui permet, d'une part, de fixer et maîtriser au mieux les facteurs connus pour influer sur la réponse des organismes et, d'autre part, une comparaison des résultats obtenus notamment sur différents polluants et entre différents laboratoires. L'accent est mis sur la standardisation et la reproductibilité des mesures réalisées, de manière à obtenir une information fiable sur le phénomène de toxicité [Taub, 1989] ; [AERMC, 2002] ; [Triffault-Bouchet, 2004] ; [Volatier, 2004] ; [Clément, 2006].

Les tests sont classés selon le rapport durée d'exposition sur durée du cycle de vie de l'organisme test et selon les critères d'effet mesurés : mortalité, croissance, reproduction, activités enzymatiques, etc. [Calow, 1993] ; [Forbes et Forbes, 1997]. Ainsi, on distingue : des tests de toxicité aiguë, des tests de toxicité chronique et des tests de génotoxicité [Triffault-Bouchet, 2004].

Les essais de toxicité aiguë sont des essais à court terme, au cours desquels les effets doivent se révéler sur une courte durée (de quelques heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'animal) après administration d'une dose unique de substance. Si aucun effet n'est observé, la substance n'a pas de toxicité aiguë, dans les conditions de l'essai ; ce qui ne veut pas dire pour autant que cette substance ne présente pas de toxicité chronique. Ces essais permettent d'établir une relation entre la concentration d'exposition et l'intensité de l'effet. Les résultats sont généralement exprimés par une CE_{50} (Concentration Efficace) qui est la concentration pour laquelle les effets sont observés pour 50 % des individus testés. Comme exemple d'effets observés, on peut citer la survie, la létalité ou l'inhibition de la mobilité [AERMC, 2002] ; [Triffault-Bouchet, 2004].

Les essais de toxicité chronique permettent de déterminer la toxicité chronique (à moyen ou a long terme) vis-à-vis de l'organisme test. Le temps d'exposition correspond en moyenne, à 10 % de la vie

de l'organisme et doit intégrer plusieurs stades de son cycle de vie. Suite à cette période d'exposition, si aucun effet n'est observé alors la substance ne présente pas de toxicité chronique vis-à-vis de l'organisme test. Les essais à moyen et long terme permettent de déterminer une concentration expérimentale (NOEC : No Observed Effect Concentration) en dessous de laquelle aucun effet toxique n'est observé sur l'espèce étudiée dans les conditions de l'essai [AERMC, 2002] ; [Triffault-Bouchet, 2004].

Les tests de génotoxicité évaluent les capacités des polluants à entraîner des altérations de l'ADN, altérations qui induisent des mutations géniques et/ou des mutations chromosomiques (altération de la structure des chromosomes) [Triffault-Bouchet, 2004].

L'application des bioessais mono-spécifiques dans l'évaluation de l'écotoxicité de matrices complexes liquides ou solides tels que des effluents, des déchets ou des sols pollués est assez récent [Volatier, 2004]. La classification des déchets, la gestion des déchets, des sols et des sites pollués ; la valorisation des boues en agriculture, la gestion des matériaux de dragage, la gestion des boues de dragage de ports marins, la caractérisation des lixiviats de décharge, la gestion des sédiments issus de l'assainisement urbain, … sont autant de domaines où ces bioessais trouvent leur application. Le monde de la recherche scientifique est également l'un domaine où ces bioessais trouvent leur application, notamment dans l'élaboration de méthodologie ou la conduite d'EDRE.

Cependant la faiblesse des bioessais mono-spécifiques en tant qu'outil qui puisse être utilisé seul pour prédire des risques sur l'environnement est reporté dans la littérature [Cairns Jr., 1983] ; [Pratt *et al.*, 1987] [Perrodin, 1988] ; [Volatier, 2004] ; [Parent-Raoult, 2004]. Par contre, il est également reconnu que les bioessais mono-spécifiques constituent des outils nécessaires et qu'ils sont parfaitement adaptés à la caractérisation de l'écotoxicité intrinsèque d'une substance ou d'une matrice complexe, à l'évaluation de la réponse physiologique d'un organisme par rapport à un toxique, à l'étude des interactions de différentes sources de stress, à l'étude des acclimatations physiologiques et des adaptations géniques du développement de la tolérance ou de la co-tolérance des organismes en réponse à un stress et, enfin, à l'étude des phénomènes de bioaccumulation [Pratt *et al.*, 1987] ; [Cairns Jr *et al.*, 1996].

Chaque organisme présente ses propres sensibilités vis-à-vis d'un stresseur (physique ou chimique). Pour tenir compte de cet aspect, les bioessais mono-spécifiques sont le plus souvent associés pour former une batterie de tests afin de réaliser un screening du potentiel toxique des contaminants considérés. Les espèces tests utilisées sont ainsi représentatives de plusieurs niveaux trophiques d'un écosystème récepteur considéré [Triffault-Bouchet, 2004]. Cette forme d'utilisation des bioessais mono-spécifiques est désormais reconnue comme pertinente pour la caractérisation de la qualité des milieux, en complément des analyses chimiques [Charissou *et al.*, 2006].

« Protéger l'espèce la plus sensible, c'est protéger l'ensemble des espèces et par extension, les écosystèmes cibles » est l'énoncé du concept le plus utilisé en EDRE et en EDREcotox également. Sur cette base, la communauté scientifique retient la concentration d'effet la plus sensible de la batterie de bioessais mise en œuvre dans le cadre d'une EDRE.

II.3.2.2.3.2. Batterie de bioessais mono-spécifiques - Technique pour la constitution d'une batterie de bioessais

Au moment de la constitution, *a priori*, de cette batterie de bioessais mono-spécifiques il faut procéder à des choix pertinents en ce qui concerne les organismes tests qui seront retenus. La pertinence de la phase de caractérisation des effets est fonction de la pertinence de la batterie de bioessais mise en œuvre.

Pour réaliser cette étape de sélection des bioessais, il est possible de se référer à la littérature scientifique en vue de prendre connaissance des batteries de bioessais existantes, proposées et déjà utilisées dans d'autres domaines et pour des matrices autres que celles faisant l'objet de l'EDREcotox à réaliser, en vue de mieux connaître leur spécificité, leur efficacité ainsi que les critères selon lesquels elles ont été constituées. L'ensemble de ces facteurs influencent grandement le nombre de propositions différentes de batteries de bioessais disponibles dans la littérature.

L'ADEME [2005a], a réalisé une étude sur 177 publications justement dans l'objectif de proposer une démarche optimale de sélection des tests biologiques de toxicité et de génotoxicité qui soit adaptée à différents *scenarii*. Les grandes lignes de cette démarche ont été synthétisées par Charissou *et al.* [2006], dont un extrait est présenté ci-dessous.

Généralement, deux méthodes sont mentionnées dans la littérature pour sélectionner les essais biologiques constitutifs d'une batterie [Charissou *et al.*, 2006] :

- une méthode *a priori* au cours de laquelle :
  - on sélectionne les tests individuellement sur la base de l'argument pratique, l'acceptabilité et la pertinence écologique ;
  - cette sélection est évaluée et sa complémentarité examinée sur la base de la rerprésentativité terrestre, la représentativité de la réponse du test et l'uniformité ;
- une méthode *a posteriori* : les essais sont appliqués sur un esnsemble d'échantillons et les résultats alors obtenus sont traités par diverses méthodes afin de restreindre le nombre et/ou de sélectionner les plus sensibles.

En terme de structuration de la batterie d'essais, elle doit être constituée d'au moins trois espèces différentes ou doit comprendre au moins trois critères d'effets mesurés sur une même espèce. Dans tous les cas, quelle que soit la combinaison d'espèces et/ou de critères d'effets, la batterie doit aboutir à au moins trois réponses biologiquement différentes [Charissou *et al.*, 2006].

La démarche proposée par l'ADEME [2005a], est constituée de cinq étapes et elle intègre toutes ces recommandations (voir **Figure 11**).

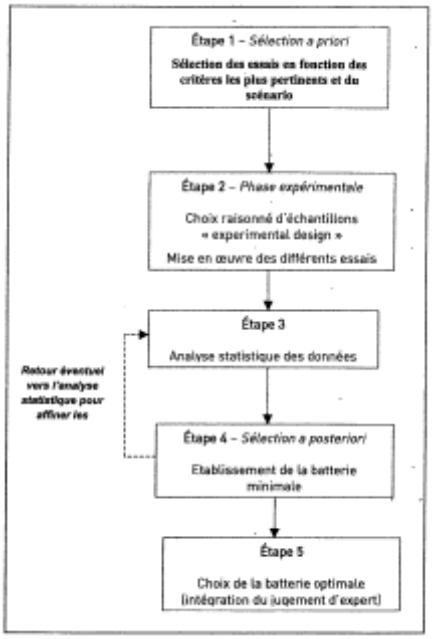


Figure 11 : **Démarche optimale d'élaboration d'une batterie d'essais en fonction du scénario choisi d'utilisation des tests [Charissou *et al.*, 2006]**

II.3.224. L'approche « bioessais pluri-spécifiques »

Dans la littérature, certains auteurs soulignent que la prévision du risque environnemental (quelles que soient la ou les substances toxiques considérées), évalué sur la base de tests mono-spécifiques, nécessite une validation à des niveaux supérieurs de complexité biologique [Forbes et Forbes, 1994b] ; [Giuckert, 1996] ; [Parent-Raoult, 2004]. En ce sens, les études *in situ* sont donc plus indiquées que les essais mono-spécifiques puisqu'elles permettent d'étudier les impacts en conditions réelles d'une contamination du milieu par une (ou des) substance(s) toxiques(s). Mais, elles posent toutefois d'importants problèmes expérimentaux et sont généralement très coûteuses [Clément, 2006].

Les microcosmes et les mésocosmes, deux bioessais pluri-spécifiques, permettent de travailler à des niveaux de représentativité des écosystèmes supérieurs à celui des essais mono-spécifiques [Kimball et Levin, 1985] ; [Forbes et Forbes, 1997] ; [Ramade, 2002]. Ceux sont des systèmes multi-espèces et ils représentent un pont entre le laboratoire et l'environnement naturel [Crossland et La Point, 1992]. Ces outils correspondent à des écosystèmes artificiels clos, constitués des composantes abiotiques de l'écosystème simulé et de plusieurs espèces représentatives de différents niveaux trophiques du milieu aquatique simulé [Caquet *et al.*, 1996] ; [Triffault-Bouchet, 2004].

Les bioessais pluri-spécifiques constituent des outils complémentaires aux bioessais mono-spécifiques qui permettent d'étudier simultanément les effets d'un ou plusieurs polluants sur un grand nombre d'espèces, représentatives de plusieurs niveaux d'organisation trophiques [Cairns Jr *et al.*, 1990] ; [Crossland et La Point, 1992] ; [Cairns Jr et Cherry, 1993] ; [Fliedner et Klein, 1996]. Dans

le cadre des évaluations d'impact ou de risque, l'utilisation de cet outil permet de diminuer les facteurs de sécurité ou d'incertitude à appliquer pour évaluer la situation au niveau écosystémique [Crossland et La Point, 1992] ; [Triffault-Bouchet, 2004].

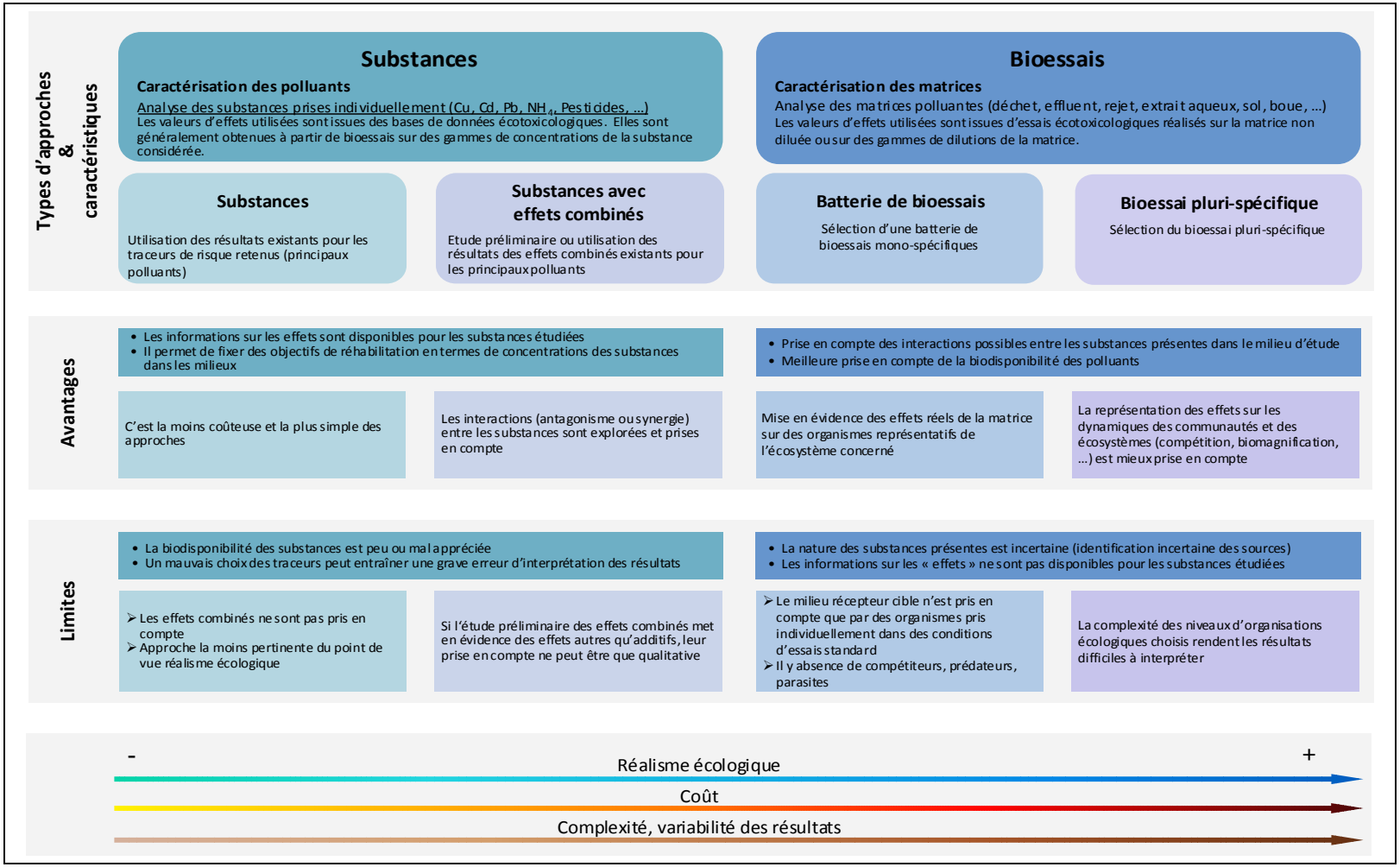
Cependant, Cairns [1996] souligne que contrairement aux bioessais mono-spécifiques, les essais à l'échelle d'une communauté ou d'un écosystème présentent dans tous les cas une plus faible reproductibilité et un coût plus important. La pertinence des biodescripteurs et de l'échelle spatio-temporelle retenue influencent la fiabilité des résultats des microcosmes. Ainsi, selon Carpenter [1996], l'utilisation des résultats de microcosmes peut conduire à des erreurs d'appréciation importantes. Calow [1996] note pour sa part que les résultats d'un essai pluri-spécifique ne sont pas forcément plus généralisables que ceux d'essais mono-spécifiques.

II.3.23. Conclusion sur la caractérisation des effets écotoxicologiques

Il ressort, de la présentation de ces quatre types d'approches (substances, substance avec effets combinés, bioessais mono-spécifiques et bioessais pluri-spécifiques) qu'elles contribuent à répondre à objectifs, à des préoccupations différents et qu'elles sont bien complémentaires pour appréhender globalement une problèmatique. Une bonne association de ces quatre approches peut aboutir au schéma d'approche intégrée que proposent Simon *et al.* [1998] pour parvenir à déterminer la toxicité d'un effluent. Pour Calow [1993], parvenir à élaborer un système idéal passe par le respect de ces cinq critères de performance : le réalisme écologique, la répétabilité, la reproductibilité, la sensibilité, la fiabilité (précision) et la robustesse (facilité d'interprétation) ; objectif qui est, a *priori*, difficile à atteindre avec un seul essai.

Boillot [2008] a synthétisé les principales caractéristiques, avantages et limites des 4 approches de caractérisation des effets développées dans ce document. Il ressort que selon le scénario et la problématique étudiés dans le cadre d'une EDRE, ce tableau de synthèse peut évoluer en faisant apparaître d'autres besoins et d'autres limites vis-à-vis du scénario étudié.

Tableau 10 : Avantages et limites des différentes stratégies d'approches de la caractérisation des effets dans les EDREcotox ([Boillot, 2008] ; version améliorée par Angerville)



II.4. TYPES D'ESSAIS UTILISES POUR LA CARACTERISATION DES EFFETS ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES MILIEUX AQUATIQUES

II.4.1. Bioessais mono-spécifiques

Les bioessais mono-spécifiques permettent d'étudier deux types de toxicité vis-à-vis des organismes tests utilisés : la toxicité aiguë et la toxicité chronique.

Certains des bioessais mono-spécifiques existants font l'objet d'une normalisation (internationale, européenne, française), ce qui facilite leur utilisation suivant une base standard. Cependant, il existe dans la littérature des bioessais pour lesquels les protocoles expérimentaux ne sont pas normalisés. Généralement, ces essais non-normalisés sont utilisés en raison de leur aptitude pour la mise en œuvre d'essais sur des matrices spécifiques ou en réponse à d'autres contraintes techniques (non disponibilité de cultures ou d'élevage des organismes faisant l'objet de protocoles normalisés en laboratoire ou dans le pays de la conduite de l'étude, faible coût, …).

Dans le cadre d'une étude, on peut donc être amené à utiliser ces deux possibilités afin de pouvoir caractériser les effets d'un stresseur.

II.4.11. Bioessais normalisés et organismes tests en milieu aquatique

Les bioessais normalisés sont très utilisés comme outils de la réglementation et, notamment, dans le cadre : du contrôle des rejets polluants (ils sont intégrés dans le calcul des redevances payées par les industriels à des Agences de l'Eau), l'homologation des substances chimiques de synthèse (à travers l'autorisation de mise sur le marché de nouvelles substances), l'établissement de grille de danger (au cours de la définition de concentration seuil sans effet probable et de concentration à partir duquel on peut s'attendre à un effet) [AERMC, 2002]. Outre cette fonction d'outils réglementaires, les bioessais normalisés sont également très utilisés dans le domaine de la recherche scientifique.

Parmi les bioessais normalisés existants certains sont développés avec des invertébrés (bactéries, crustacés, …) et d'autres avec des organismes vertébrés (poissons).

Parmi les organismes invertébrés, les cladocères et plus spécialement les espèces *Daphnia magna Strauss* et *Ceriodaphnia dubia* sont très largement utilisées pour la conduite d'essais visant à mettre en évidence la toxicité d'échantillons aqueux vis-à-vis des écosystèmes dulçaquicoles.

Il existe des cas où certains organismes tests font l'objet d'essai normalisé et pour lesquels des protocoles de bioessais non-normalisés sont également disponibles pour le même organisme. C'est par exemple le cas pour la daphnie (Daphtoxkit™ F), les rotifères (Rotoxkit™ F), les algues (Algaltoxkit™), … Il sont commercialisés sous la forme de Toxkit™. Ces cas sont présentés dans le paragraphe ci-dessous, consacré au bioessais non-normalisés.

II.4.12. Bioessais non-normalisés et organismes tests en milieu aquatique

Les mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques contribue à apporter des informations indispensables pour évaluer l'impact potentiel de polluants dans l'environnement [Ramade, 2007].

Par conséquent, quand pour des raisons spécifiques (coût, disponibilité, représentativité, …) les bioessais normalisés ne suffisent pas pour atteindre cet objectif, l'option généralement adoptée est de recourir à des bioessais non-normalisés. Ce choix peut donc conduire à retenir des bioessais non-normalisés mais pour lesquels on dispose de protocole bien défini, tout comme on peut être amené à développer d'autres bioessais au moyen d'organismes autochtones, par exemple.

En ce sens, on retrouve dans la littérature un grand nombre de bioessais non-normalisés mis en œuvre sur différentes matrices en vue de disposer d'outils adaptés ou qui permettent d'approfondir les recherches sur des aspects bien spécifiques d'une problématique. A titre d'exemple, on peut citer les travaux de recherche suivants : [Do Hong, 2001] ; [Wu *et al.*, 2007] ; [Lopes *et al.*, 2007] ; [Oleszczuk, 2008].

D'autres bioessais disponibles dans le commerce sous la forme de « kit » rentrent également dans cette catégorie, notamment les Toxkit™ développés et produits par la société MicroBioTests. Ces Toxkits™ permettent de réaliser des essais de toxicité sur différentes espèces. Ils sont basés sur une miniaturisation et une standardisation des essais de toxicité classiques. Les organismes tests sont fournis sous forme d'œufs de dormance (sporocystes). Cette forme de commercialisation présente l'avantage de libérer l'utilisateur des contraintes de la culture en continu des organismes tests et de disposer d'une variété de bioessais qui peuvent servir à constituer une batterie minimale de bioessais pour caractériser l'écotoxicité d'un échantillon. D'ailleurs, certains microbiotests ont été développés au moyen d'organismes utilisés pour la conduite de bioessais normalisés (crustacés, rotifères, micro-algues). Ces microbiotests permettent également de disposer de certains organismes spécifiques adaptés pour tester la toxicité de certaines matrices polluantes bien déterminées. Les Toxkits™ sont largement utilisés pour la réalisation de tests de toxicité en routine. Les résultats relatés dans la littérature pour des études conduites avec ces organismes sont pratiquement comparables, dans certains cas, à ceux obtenus au moyen d'organismes élevés en laboratoire [Persoone *et al.*, 1993] ; [Janssen et Persoone, 1993] ; [Sefrioui et Chergui, 2002] ; [R-Biopharm France, 2006] ; [Oleszczuk, 2008].

Les études conduites au moyen de bioessais non-normalisés utilisant des organismes autochtones ou des Toxkits™ concluent généralement à un caractère pertinent des résultats découlant de l'utilisation de ces outils.

II.4.13. Exemples de bioessais mono-spécifiques utilisés en milieux aquatiques

Le Tableau 11 présente quelques exemples d'organismes utilisés pour la conduite de bioessais mono-spécifiques et de critères d'effets suivis sur la durée de l'essai.

Tableau 11 : Exemples d'organismes tests utilisés en milieu aquatique pour la caractérisation des effets écotoxicologiques (liste non exhaustive)

Type de toxicité	Organismes	Critère d'effets
Aiguë	Daphnie	Mobilité
	Cériodaphnie	Mobilité
	Bactérie (marine)	Luminescence
	Poisson	Survie
	Copépode (marin et eau douce)	Survie
	Rotifère (marin ou eau douce)	Survie
Chronique	Daphnie	Reproduction
	Cériodaphnie	Reproduction
	Algue (marine ou eau douce)	Croissance de la population, activité enzymatique
	Lentille d'eau	Croissance de l'organisme test
	Rotifère	Reproduction
	Copépode	Reproduciton
	Ostracode	Mortalité et croissance des organismes tests

II.4.2. Bioessais pluri-spécifiques existants et quelques exemples

En écotoxicologie aquatique, peu d'essais en microcosmes et en mésocosmes se font dans des conditions standardisées. Leur conception et leur dimensionnement sont variables d'une équipe de recherche à une autre. La conception de ces outils se fait au cas par cas selon le ou les objectifs de l'étude ([Crossland et La Point, 1992] ; [Cairns Jr et Cherry, 1993]) et l'écosystème récepteur simulé, lotique ou lentique [Triffault-Bouchet, 2004].

Dans la littérature on distingue : les microcosmes de laboratoire (systèmes de taille restreinte sous conditions de température, d'éclairement et de photopériode contrôlées), les microcosmes extérieurs (mares expérimentales d'un volume d'eau inférieur à 15 m^3 ou rivière artificielle dont la longueur est inférieure à 15 mètres de long [Crossland et La Point, 1992] ; [Caquet *et al.*, 1996]) et les mésocosmes (systèmes artificiels extérieurs de volume d'eau inférieur à 15 m^3 pour les mares ou rivière artificielle dont la longueur est supérieure à 15 mètres [Crossland et La Point, 1992] ; [Caquet *et al.*, 1996]). Les caractéristiques biologiques de ces systèmes dépendent essentiellement de leur dimensionnement [Triffault-Bouchet, 2004] qui influencerait par ailleurs elles-mêmes la qualité du contrôle [Petersen *et al.*, 1999] ; [Caquet *et al.*, 2000].

De nombreuses données sont disponibles dans la littérature sur les études en microcosmes et en mésocosmes. Quelques uns d'entre eux sont présentés dans le Tableau 12, en ne reprenant que le volume du système et les références des auteurs.

Tableau 12 : Exemples de microcosmes et de mésocosmes utilisés en milieu aquatique (liste non exhaustive)

Volume	Critère d'effets
150 mL	[Parent-Raoult, 2004] ; [Volatier, 2004]
2 L	[Clément et Cadier, 1998] ; [Cauzzi, 2007]
50 L	[Yang *et al.*, 1999]
84 L	[Hickley *et al.*, 1999]
100 L	[Triffault-Bouchet, 2004] ; [Clément *et al.*, 2005] ; [Cauzzi, 2007]
180 L (gravières)	[Clément, 2006]
600 litres	[Van den Brink *et al.*, 2002]
5 000 L	[Merlin *et al.*, 1992] ; [Merlin *et al.*, 2002]
5 000 L	[Seguin *et al.*, 2001]
30 000 L	[Caquet *et al.*, 1996]
50 000 L	[Crossland et Bennett, 1984]
Canaux artificiels	[Kreutzweiser *et al.*, 1995] ; [Brunet, 2000]; [Parent-Raoult, 2004]
Rivières artificielles	[Belanger *et al.*, 2004] ; [Volatier, 2004] ; [Rier et Stevenson, 2006]

II.4.3. Adaptation de protocole

En vue de répondre à certaines interrogations d'ordre scientifique (l'influence d'un paramètre spécifique par rapport à un effet observé, …) et pour pallier certaines contraintes d'ordre technique (type de matrices étudiées, volume d'échantillons disponible, …) il peut s'avérer nécessaire de faire quelques adaptations au niveau du protocole ou de la norme existants. Ce besoin d'adaptation s'applique tant aux bioessais mono-spécifiques qu'aux bioessais pluri-spécifiques. Dans certains cas de figure, il est possible de se référer à la bibliographie existante (ex. : [INERIS, 2003c]) mais cette alternative reste assez limitée.

PARTIE B : MATERIELS ET METHODES

La réalisation de ce travail de thèse a nécessité la mise en œuvre de plusieurs protocoles expérimentaux. Cette partie du document est essentiellement dédiée à la présentation de ces protocoles et à la justification de leur choix.

Les cinq principaux points qui constituent cette partie sont les suivants :

- **le premier point** porte sur l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés des polluants généralement présents dans les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP). Cette étude est conduite vis-à-vis de deux organismes aquatiques : le crustacé *Daphnia magna* et l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*. Les polluants étudiés, les protocoles de mise en œuvre des essais retenus, la démarche adoptée pour l'étude des effets combinés, …, sont autant d'éléments d'information fournis ;

- **le second point** présente la démarche d'évaluation des risques écotoxicologiques (EDREcotox) proposée pour le scénario d'étude. Cette démarche repose sur une **approche *a priori*** qui est basée sur la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique d'échantillons de RUTP avant leur rejet dans la rivière. Le contexte général du scénario étudié ainsi que les choix réalisés et les protocoles de mise en œuvre associés à ces choix y sont également présentés ;

- **le troisième et le quatrième points** sont consacrés à l'application de la méthodologie d'EDREcotox *a priori* élaborée, à deux *scenarii* différents : un en France et un en Haïti. En vue de faciliter la lecture du document et en raison de la spécificité de chacun de ces sites d'étude, le choix a été fait de présenter séparément les démarches adoptées pour la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP prélevés dans chacun de ces pays. Ainsi, **le troisième point** traite de l'échantillon de RUTP prélevé en France, au niveau du Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge se déversant dans la rivière Chaudanne (69), tandis que **le quatrième point** est consacré aux échantillons prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne (à Port-au-Prince) en Haïti ;

- **le cinquième point** propose une démarche d'évaluation des risques écotoxicologiques (EDREcotox) basée sur une **approche *a posteriori*** pour un cours d'eau péri-urbain français soumis à des déversements de RUTP. Cette démarche repose sur la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique d'échantillons prélevés dans les différents compartiments de la rivière péri-urbaine du scénario français dont un tronçon est exposé depuis de nombreuses années à des rejets d'un DO.

ETUDE DE L'ECOTOXICITE ET DES EFFETS COMBINES DE POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

I. ECOTOXICITE ET EFFETS COMBINES DE POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

Cette partie présente l'étude réalisée sur les effets combinés de polluants rencontrés dans les RUTP et connus pour leur toxicité vis-à-vis des organismes aquatiques. Elle s'articule autour des cinq points suivants :

- une présentation succincte de quelques critères qui ont permis de retenir les composés étudiés ainsi que les types de mélanges qui seront réalisés ;
- la présentation des organismes tests et des bioessais choisis pour évaluer l'écotoxicité des substances et mélanges étudiés ;
- une description des protocoles expérimentaux utilisés : réalisation des mélanges, mise en œuvre des essais d'écotoxicité ;
- les méthodes retenues pour la phase de traitement des résultats des essais d'écotoxicité et pour l'étude des effets combinés ;
- les calculs de spéciation théorique pour les solutions des différents sels et des mélanges binaires étudiés.

I.1. POLLUANTS RETENUS ET SUBSTANCES ETUDIEES

Les différentes études déjà réalisées sur la caractérisation des flux polluants drainés par les Eaux Pluviales Urbaines (EPU) et les RUTP ont permis de mettre en évidence les grandes familles de polluants qui sont généralement rencontrées dans ces types de rejet. La première partie de la revue bibliographique a présenté un état des lieux (non exhaustif) des informations disponibles sur ces grandes familles de polluants. Le choix des polluants retenus pour réaliser cette partie (étude des effets combinés) repose essentiellement sur cette base bibliographique.

Le choix s'est porté sur les polluants inorganiques et se justifie par le fait que plusieurs éléments de cette famille, dont les métaux lourds, sont connus pour leur toxicité. Certains éléments métalliques, comme Cu, Zn, Co, Ni, Cr, Sn, …, présents à l'état de traces, sont éssentiels et indispensables pour les organismes mais en quantités minimes. L'augmentation de leur concentration dans l'environnement peut cependant aboutir à des phénomènes de toxicité. Cependant, d'autres éléments, comme Pb, Hg, Cd, ne sont pas nécessaires et ne peuvent produire que des effets toxiques. La présence des éléments appartenant à cette dernière catégorie est fortement aggravée, dans l'environnement, par les activités humaines [Sigg *et al.*, 2006].

Quatre de ces éléments inorganiques ont été sélectionnés ; il s'agit des métaux suivants : le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et le zinc (Zn). Ces derniers figurent parmi les polluants généralement présents dans les RUTP et certains (Cd et Pb) figurent sur la liste des substances prioritaires de la Directive Européenne 2000/60/CE et de l'INRS (Cd). Nous nous sommes également intéressés à l'ammonium (NH_4) en raison de sa présence dans ces types de rejets. La concentration de l'ion ammonium dans un milieu est très dépendante du pH de ce milieu et aboutir à des situations où la forme non ionisée (NH_3), connue pour être la forme la plus toxique, prédomine au sein du

milieu concerné. Quelques éléments d'information sont présentés sur chacun de ces cinq polluants dans les paragraphes suivants.

En ce qui concerne les substances étudiées, le choix a été fait de tester les formes les plus solubles donc les plus biodisponibles. Pour les métaux lourds étudiés, c'est l'ion libre (la forme Me^{2+}) qui est concerné. Les nitrates de cations sont en général les formes chimiques les plus solubles dans l'eau [Atkins et Jones, 2007]. En effet, le NO_3^- est peu complexant par rapport aux chlorures par exemple et garantit donc une quantité de cations métalliques libres (Me^{2+}) plus importante en solution.

Les sels d'ammonium utilisés sont le nitrate et le sulfate pour la réalisation d'essais préliminaires vis-à-vis des organismes tests avec la finalité de ne retenir que la forme qui présente la plus importante toxicité vis-à-vis de l'organisme test utilisé pour la suite de l'étude. Les détails relatifs à cette approche sont présentés dans les paragraphes I.3.1 et I.3.3 de la partie « Matériels et Méthodes ».

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'écotoxicité de ces substances lorsqu'elles sont en mélange binaire vis-à-vis des mêmes organismes utilisés pour l'étude de l'écotoxicité des substances seules. Les organismes choisis ainsi que les protocoles des essais mis en œuvre sont présentés de façon plus détaillée dans les paragraphes suivants (paragraphes I.2 et I.3).

I.1.1. Quelques caractéristiques communes aux éléments métalliques

Les métaux (essentiels ou non nécessaires) présentent quelques caractéristiques communes dont certaines sont reprises ici.

Dans l'environnement, ils se trouvent sous la forme de cation, à l'état d'oxydation +2, mais plusieurs formes ioniques peuvent se trouver dans l'eau et dans les sols. En milieu aquatique, on rencontre ces éléments sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale, particulaire) et chimiques. Ils peuvent également être accumulés dans les tissus des organismes aquatiques (animaux ou végétaux). Leur présence dans les eaux peut être attribuée à l'érosion des sols par les cours d'eau ou le ruissellement, à la contamination des sols ou des cours d'eau par des engrais ou des déversements directs accidentels, à des rejets d'eaux usées qui contiennent encore des métaux, même après traitement [Dameron et Howe, 1998] ; [AERMC, 2002] ; [IRSN, 2004] ; [Samoura, 2004] ; [INERIS, 2004] ; [INERIS, 2005f] ; [INERIS, 2005c] ; [INERIS, 2005e] ; [Casas, 2005].

Quelques références en termes d'écotoxicité de ces polluants sont présentées dans le paragraphe I.1.8, pour les formes chimiques testées dans le cadre de cette étue.

I.1.2. Cadmium (Cd)

Le cadmium est un métal qui appartient à la famille des métaux de transition. C'est un élément relativement rare qui n'existe pas naturellement à l'état natif. Il est présent dans la croûte terrestre à des concentrations d'environ 1 à 2 ppm, où il est souvent associé au zinc (Zn) et au plomb (Pb). Il est également obtenu comme sous-produit de raffinage du plomb et du cuivre. Ses propriétés chimiques présentent beaucoup de similitudes avec celles du zinc. Il possède une résistance à la

corrosion dans diverses atmosphères et plus particulièrement en milieu marin [Tricot, 1999] [IRSN, 2004] ; [INERIS, 2005e] ; [Casas, 2005].

Les principaux domaines d'utilisation du cadmium sont la galvanoplastie, la fabrication d'accumulateurs alcalins, les alliages et l'industrie nucléaire. Les principales sources de rejet de cadmium dans l'atmosphère sont liées aux activités industrielles telles que le raffinage des métaux non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier. Dans les milieux aquatiques, le cadmium provient de l'érosion naturelle, du lessivage des sols (engrais phosphatés), de sa dissolution de certaines canalisations galvanisées ou en matière plastique ainsi que des décharges industrielles et du traitement des effluents industriels et des mines. Seul environ 5% du cadmium utilisé est recyclé, ce qui a d'importantes conséquences environnementales [Rodier *et al.*, 1996] ; [Ellis *et al.*, 2004; IRSN, 2004] ; [INERIS, 2005e] ; [Casas, 2005].

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes (animaux ou végétaux) et ne participe pas au métabolisme cellulaire. En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus [IRSN, 2004]. Parfois, il remplace le zinc dans des systèmes enzymatiques carencés en Zn chez le plancton [Morel, 1983] ; [Price et Morel, 1990] ; [Casas, 2005]. Présent à l'état d'impuretés dans des engrais chimiques (les superphosphates), le cadmium contamine les sols, les plantes (mousses et lichens) et les organismes aquatiques (mollusques, crabes, poissons). La toxicité du cadmium a été beaucoup étudiée pour les poissons d'eau douce, ce qui a conduit à la recommandation, au moyen d'une norme européenne, de ne pas dépasser une concentration de 5 µg/L. La dureté de l'eau et la température influent sur la toxicité du cadmium pour les poissons, spécialement au stade juvénile. Les données issues des tests de toxicité effectués sur des macroinvertébrés suggèrent que ce sont les curstacés qui sont les espèces les plus sensibles. En ce qui concerne l'être humain, la cigarette est considérée comme la principale source d'absorption du Cd chez l'Homme. Parmi les pathologies que le cadmium provoquent pour l'être humain, on distingue : l'hypertension, l'anémie, des anomalies cardiaques, des altérations du foie et des reins, … [Ellis *et al.*, 2004] ; [Samoura, 2004].

Le cadmium (Cd) est bioaccumulable et répertorié comme toxique par l'INRS sous ses formes sulfure et oxyde de cadmium. C'est une substance classée « dangereuse prioritaire » par la Directive Européenne 2000/60/CE [AERMC, 2002].

I.1.3. Cuivre (Cu)

Le cuivre existe à l'état natif et est extrait d'une grande variété de minerais. Il se rencontre surtout sous forme de sulfures CuS et Cu_2S dans la tétrahédrite et l'énargite, et sous forme d'oxydes. Le minerai le plus important est la chalcopyrite. La teneur en cuivre dans les minerais varie de 0,5 à 5 %. Elle est de 0,01 % dans les roches volcaniques et de 0,0055 % dans les roches cristallines. Le cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et de sa conductibilité électrique et thermique. Il est utilisé dans la métallurgie, dans la fabrication des alliages de bronze (avec étain), de laiton (avec zinc) ou de joaillerie (avec or et argent). Il est très largement employé dans la fabrication de matériels électriques (fils, enroulements de moteurs, …), dans la plomberie,

dans les équipements industriels, dans l'automobile (garnitures de freins), et en chaudronnerie. Les sels de cuivre sont utilisés dans l'industrie textile, les tanneries, l'industrie de la photographie, les fongicides, les traitements de surface et en agriculture.

Le cuivre est présent dans l'environnement de manière ubiquiste. Les principales sources anthropiques sont l'industrie du cuivre et des métaux en général, l'industrie du bois, l'incinération des ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate). Le milieu le plus exposé au cuivre est le sol : 97 % du Cu libéré dans l'environnement s'y retrouve contre seulement 3 % dans les eaux et 0,04 % dans l'air [ATSDR, 1990] ; [AERMC, 2002] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005] ; [INERIS, 2005f].

Le cuivre est indispensable au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments). L'ion Cu^{2+} forme de nombreux complexes solubles stables avec des ligands minéraux, comme les chlorures ou l'ammonium, ou avec des ligands organiques. L'oxyde cuivreux Cu_2O est insoluble dans l'eau alors que les formes sulfates, chlorures, nitrates le sont. Dans l'eau, le cuivre particulaire représenterait de 40 à 90 % du cuivre. En milieu aquatique et dans la phase soluble, la biodisponibilité et la toxicité du cuivre peuvent être favorisées par des molécules complexantes organiques synergiques qui sont liposolubles et par conséquent capables de traverser les membranes cellulaires. Il est également admis qu'une augmentation de la dureté réduit la toxicité aiguë du cuivre [ATSDR, 1990] ; [Dameron et Howe, 1998] ; [AERMC, 2002] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Casas, 2005] ; [INERIS, 2005f].

I.1.4. Plomb (Pb)

Le plomb peut être présent naturellement dans l'environnement ; on le rencontre à des concentrations peu élevées dans la croûte terrestre. Cet élément est très souvent associé au zinc dans les minerais mais aussi à de nombreux autres éléments : Fe, Cu, Cd, Bi, Sb, Ge, As, Ag, Au, qui sont en grande partie (sauf Fe) récupérés lors des opérations métallurgiques. Les minerais mixtes Pb-Zn représentent 70 % de la production minière de plomb, les minerais de plomb en représentent 20 %, et 10 % de la production de plomb proviennent d'une coproduction lors du traitement de minerais de cuivre, de zinc ou d'autres métaux. Le principal minerai du plomb est la galène (PbS) très souvent associé à la blende et à la pyrite [Chiffoleau *et al.*, 2001] ; [AERMC, 2002] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005].

L'utilisation du plomb est directement liée à la métallurgie. La fabrication des batteries électriques (de démarrage pour automobile, de batteries stationnaires, …) représente une fraction importante des utilisations du plomb. Les batteries pour l'automobile représentent à elles seules 65 à 70 % des utilisations du plomb dans le monde occidental. Le reste de la consommation concerne des usages divers : radiateurs d'automobiles, munitions, alliages, enrobage de cables, produits extrudés, feuille de plomb (protection contre les rayonnements), soudure, céramique, masses de lestage, tuyaux, réservoirs, …. Il y a deux grands pics notables d'utilisation du plomb qui ont été détectés ; ils remontent : (i) sous l'empire romain pour la production de la monnaie, les canalisations et la vaisselle mais également pour améliorer la saveur des vins ; et (ii) pendant la révolution industrielle pour l'industrie, l'imprimerie, les peintures et les carburants automobiles. Cette dernière utilisation qui consistait à ajouter du plomb à l'essence comme antidétonant est aujourd'hui prohibée. Depuis

décembre 1991, il n'y a plus de production minière en France. Par contre, plus de 90 % du plomb utilisé dans les batteries sont récupérés [Miquel, 2001] ; [AERMC, 2002] ; [INERIS, 2003b] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005].

Le plomb inorganique et ses dérivés sont connus pour être responsables, entre autres, d'altérations osseuses et neurologiques graves chez l'Homme. Des effets ont également été observés chez des organismes aquatiques. A titre indicatif, des effets sur la croissance de certaines espèces phytoplanctoniques ont été enregistrés à partir de 0,5 µg/L. les alkyls de plomb sont réputés plus toxiques que le plomb inorganique. La classification CEE (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie le plomb comme une substance « présentant des dangers d'effet cumulatif et présentant des risques possibles d'altérations de la fertilité ». C'est, de plus, une substance classée « prioritaire » par la Directive Européenne 2000/60/CE [AERMC, 2002] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005].

I.1.5. Zinc (Zn)

Le zinc est un métal relativement courant et indispensable au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments) ; en particulier comme coenzyme. Le zinc est présent dans l'écorce terrestre, souvent associé au plomb et au cadmium dans les minerais, avec une teneur variant de 4 à 20 %. Le minerai principal est la blende, sulfure de zinc (ZnS). Le zinc est principalement utilisé pour les revêtements de protection des métaux contre la corrosion. Il entre dans la composition de divers alliages (laiton, bronze, alliages légers). Il est utilisé dans la construction immobilière, les équipements pour l'automobile, les chemins de fer et dans la fabrication de produits laminés ou formés. Il constitue un intermédiaire dans la fabrication d'autres composés et sert d'agent réducteur en chimie organique, …. Les sels de ce métal interviennent également dans la préparation de produits pharmaceutiques et d'insecticides, dans la fabrication de pigments, etc. [AERMC, 2002]; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005] ; [INERIS, 2005c].

Les apports anthropiques de zinc dans l'environnement résultent des sources minières industrielles (traitement minerai, raffinages, galvanisation du fer, gouttières de toitures, piles électriques, pigments, matières plastiques, caoutchouc), des épandages agricoles (alimentation animaux, lisiers) et des activités urbaines (trafic routier, usures des chenaux de bâtiments, usure des pneumatiques sur la chaussée, incinération d'ordures) [AERMC, 2002] ; [Ellis *et al.*, 2004] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005] ; [INERIS, 2005c].

Comme le cuivre, le zinc est un métal essentiel (notamment à la différentiation et à la croissance normales des cellules) à la vie d'un grand nombre d'organismes, mais en quantité généralement faible. Cependant, certains composés du zinc sont connus pour avoir des effets délétères sur l'Homme et l'animal. Il a également été mis en évidence une dépendance de la toxicité du zinc à l'égard de la dureté de l'eau [Ellis *et al.*, 2004] ; [Samoura, 2004] ; [Casas, 2005] ; [INERIS, 2005c].

I.1.6. Ammonium (NH_4)

L'ammonium (NH_4^+) est l'une des formes minérales réduite de l'azote. Les ions ammonium sont principalement produits par les excrétions des animaux aquatiques, la décomposition de la matière organique par des bactéries ou des champignons et les apports extérieurs, notamment, d'eaux usées domestiques ou de lisiers. Ils peuvent être assimilés directement par certains organismes ou oxydés rapidement si l'eau est bien oxygénée. L'ammonium peut cependant être localement abondant dans les milieux eutrophes[1] ou à proximité des rejets. Dans ce cas, sa concentration peut devenir dangereuse pour les organismes vivants. Il semble également qu'une concentration élevée en ammonium aggrave les conséquences des chocs anoxiques[2] [Chocat, 1997].

La proportion relative d'ammonium (forme ionisée) et d'ammoniac dépend du pH et de la température de l'eau. Les deux formes sont en égales proportions pour un pH de l'ordre de 9,3. Dans les milieux plus neutres, la forme ionisée est dominante. Si le pH du milieu augmente (par exemple dans un lac eutrophe), une quantité importante d'ammoniac gazeux peut se volatiliser dans l'atmosphère. L'habitude a été prise de désigner les deux formes, ammoniac (forme non ionisée) et l'ammonium, sous le vocable d'ammoniaque. Ces formes (ionisée et non ionisée) sont tous les deux dangereux pour les poissons et les invertébrés [Ellis *et al.*, 2004] ; Cauzzi [2007] a également observé que les daphnies et les chironomes se montrent particulièrement sensibles à l'ammoniaque sous sa forme non ionisée (NH_3).

En ce qui concerne la toxicité de l'ammoniaque pour la faune piscicole d'eau douce et de nombreuses autres espèces pélagiques (algues, micro-crustacés, amphipodes, etc.), il est reconnu que c'est la forme non ionisée (l'ammoniac : NH_3) qui est toxique [Rodier *et al.*, 1996] ; [Ankley *et al.*, 1990] ; [Burton Jr, 1991] ; [Frazier *et al.*, 1996] ; [Whiteman *et al.*, 1996] ; [Carpentier *et al.*, 2002] ; [Triffault-Bouchet, 2004] ; [Cauzzi, 2007]. Malgré le fait que l'ammoniac soit plus toxique, il représente assez souvent une très faible proportion de la concentration totale d'ammoniaque, spécialement pour un pH < 7 [US EPA, 1999b] ; [Newton et Bartsch, 2007]. De ce fait, très peu de données existent sur les effets toxiques de l'ammonium, ce qui n'est pas le cas en ce qui concerne l'ammoniac.

Concernant l'ammoniac (NH_3), la concentration provoquant une mortalité de 50% de truites arc-en-ciel en 96h (DL 50) varie entre 0,2 et 1,1 mgL (valeur moyenne 0,35 mg/L). Des effets toxiques chroniques semblent apparaître à des concentrations de l'ordre de 0,016 mg/L. Enfin, la présence d'ammoniac renforce les effets toxiques des faibles concentrations en oxygène dissous ([Ellis *et al.*, 2004]).

Dans la plupart des eaux courantes, le pH étant entre 6,5 et 8,5, la plus grande partie de l'azote ammoniacal (ou ammoniaque) se trouve sous la forme ionisée, relativement peu toxique [D.D.A.S.S. - D.R.A.S.S. d'Ile de France, 2000]. La présence de l'ion ammonium (NH_4^+) dans les eaux de surface

[1] Milieu eutrophe : milieu riche en diversité de nourritures et d'espèces [Chocat, 1997].

[2] Milieu anoxie : caractéristique d'un milieu présentant une carence en oxygène. On parle de choc anoxique ou de crise anoxique lorsque l'absence d'oxygnè est de quelques heures [Chocat, 1997].

peut être considérée comme un indicateur de pollution. On le trouve dans les eaux naturelles à des concentrations qui peuvent varier de 0,1 à plus de 10 mg/L. Le NH_4^+ constitue un élément gênant dans le traitement de l'eau potable car il interfère avec la chloration pour former des chloramines (qui modifient l'odeur et le goût de l'eau) et il est aussi un aliment pour certaines bactéries qui peuvent ainsi proliférer dans les réseaux de distribution. De ce fait, la Directive Européenne 98/83/CE [1998] recommande une concentration maximale d'ammonium de 0,5 mg/L pour les eaux destinées à la consommation humaine [GLS, 2006]. L'oxydation biologique de l'ammoniaque ($NH_4^+ + NH_3$) peut développer des zones anaérobies dans cetaines parties des réseaux de distribution et provoquer la corrosion des conduites (surtout si elles sont en cuivre) [D.D.A.S.S. - D.R.A.S.S. d'Ile de France, 2000].

I.1.7. Informations techniques sur les substances étudiées

Le Tableau 13 présente une synthèse de quelques informations techniques sur les substances étudiées.

Tableau 13 : Informations techniques sur les substances étudiées

Substance (Masse molaire)	Formule	Pureté	# CAS	Fournisseur
Nitrate de cadmium tétrahydrate (308,47 g/mol)	$Cd(NO_3)_2$, $4H_2O$	Pour Analyse 99%	10022-68-1	MERCK
Nitrate de cuivre (II) trihydrate (241,60 g/mol)	$Cu(NO_3)_2$, $3H_2O$	RECTAPUR 98%	10031-43-3	PROLABO
Nitrate de plomb (II) (331,21 g/mol)	$Pb(NO_3)_2$	RECTAPUR 98,5%	10099-74-8	PROLABO
Nitrate de zinc hexahydraté (297,47 g/mol)	$Zn(NO_3)_2$, $6H_2O$	RECTAPUR 99%	10196-18-6	PROLABO
Sulfate d'ammonium (132,14 g/mol)	$(NH_4)_2SO_4$	NORMAPUR 99,5%	7783-20-2	PROLABO

I.1.8. Données écotoxicologiques sur les substances étudiées

Le Tableau 14 présente une synthèse de quelques données écotoxicologiques sur les substances étudiées vis-à-vis de certains organismes d'eau douce. Au cours de cette recherche bibliographique, très peu de données de toxicité ont été retrouvées dans la littrérature pour les formes chimiques retenues et vis-à-vis des organismes tests utilisés. Les données figurant dans ce tableau proviennent d'études conduites au moyen de différents protocoles et dans certains cas, les références ne révèlent pas suffisamment de détails sur les protocoles utilisés. De ce fait, l'exercice de comparaison des résultats obtenus dans le cadre de ce travail de thèse aux données de la littérature se révèlera un peu difficile.

Tableau 14 : Données écotoxicologiques sur les substances étudiées, vis-à-vis d'organismes d'eau douce

Substance (Formule)	Données écotoxicologiques	Base de données
Nitrate de cadmium tétrahydrate ($Cd(NO_3)_2$, $4H_2O$)		
LC_{50}-24h daphnie	0,6 mg/L	PAN Pesticides Database
LC_{50} daphnie (mortalité)	0,22 mg/L	TERRASYS
Nitrate de cuivre (II) trihydrate ($Cu(NO_3)_2$, $3H_2O$)		
CE_{50}-24h daphnie	0,05 mg/L	EPA ECOTOX
CE_{50}-24h daphnie	0,07 mg/L	EPA ECOTOX
CE_{50}-24h daphnie	0,27 mg/L	EPA ECOTOX
Nitrate de plomb (II) ($Pb(NO_3)_2$)		
CE_{50}-24h daphnie	88,94 mg/L	TERRASYS
CE_{50}-24h daphnie	0,517 mg/L	TERRASYS
CE_{50}-24h daphnie	0,843 mg/L	TERRASYS
CE_{50}-24h daphnie	1,58 mg/L	TERRASYS
CE_{50}-24h daphnie	0,15 mg/L	TERRASYS
CE_{50} algue Cp	88 µg/L	[Bednarz et Warkowska-Drathal, 1983-1984] ; [Samoura, 2004]
CE_{50}-72h algue Ps	66,42 µg/L	[Samoura, 2004]
Nitrate de zinc hexahydraté ($Zn(NO_3)_2$, $6H_2O$)		
CE_{50}-24h daphnie	2 mg/L	EPA ECOTOX
CE_{50}-24h daphnie	0,75 mg/L	EPA ECOTOX
DL_{50}-24h daphnie	0,75 mg/L	PAN Pesticides Database
DL_{50}-24h daphnie	2 mg/L	PAN Pesticides Database
Sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$)		
CL/CE_{50} invertébrés	393 mg/L	[INERIS, 2008a]
LC_{50}-48h daphnie	14 mg/L	PAN Pesticides Database
LC_{50}-25h daphnie	423 mg/L	PAN Pesticides Database
CL/CE_{50} algues	2700 mg/L	[INERIS, 2008a]
CL/CE_{50} poissons	173 mg/L	[INERIS, 2008a]

I.2. ORGANISMES TESTS ET BIOESSAIS RETENUS

Comme spécifié dans l'introduction de cette partie du document, la détermination de l'écotoxicité des substances présentées précédemment ainsi que l'étude de leurs effets combinés ont été réalisées vis-à-vis de deux organismes aquatiques : la *Daphnia magna* (consommateur primaire) et l'algue *Pseudikirchneriella subcapitata* (producteur primaire), qui sont très fréquemment utilisés en écotoxicologie des milieux aquatiques. Ces organismes constituent des représentants de deux niveaux de la chaîne trophique.

Plusieurs essais mono-spécifiques ont été réalisés avec ces organismes en vue d'évaluer l'impact de substances chimiques, de lixiviats, d'effluents aqueux ou d'eaux douces sur les milieux aquatiques.

Les essais mono-spécifiques retenus pour la conduite de cette étude sont succinctement présentés dans le Tableau 15. Chacun de ces organismes est présenté plus en détail dans les paragraphes I.2.1 (page 109) et I.2.2 (page 111).

Tableau 15 : Organismes tests utilisés pour l'étude de l'écotoxicité des solutions et des mélanges binaires synthétiques

Type de toxicité	Essai	Norme	Organisme test	Critère d'effet (durée exposition)
Aiguë	Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss*	NF EN ISO 6341 (T 90-301)		Mobilité (24 h)
Chronique	Inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata*	NF T 90-375		Croissance de la population (72 h)

Le choix de ces deux bioessais repose sur plusieurs critères :

- ils figurent parmi les tests les plus souvent employés dans le cadre de la surveillance d'eaux usées [Santiago *et al.*, 2002] ;
- les protocoles opératoires de ces tests sont normalisés (au niveau français et/ou européen et/ou international) ;
- la représentativité biologique des organismes tests pour les milieux dulçaquicoles ;
- la rapidité, la simplicité de mise en œuvre, la répétabilité et la reproductibilité de ces tests ainsi que leur sensibilité par rapport aux substances étudiées [Keddy *et al.*, 1995; Santiago *et al.*, 2002].

De plus, Santiago *et al.* [2002] stipulent que l'expérience montre que ces deux tests (daphnie et algues vertes) associés au test des bactéries luminescentes sont bien complémentaires pour s'assurer rapidement qu'une réponse au sujet de la toxicité - négative ou positive - peut être élargie à plusieurs niveaux trophiques.

I.2.1. Le crustacé *Daphnia magna Strauss* (Dm)

Anatomie - Biologie - Ecologie :

Les « daphnies », au sens large, connues également sous le nom de « puces d'eau » sont des petits crustacés fréquemment rencontrées dans les eaux douces. Ces microcrustacés d'eau douce sont de l'ordre *Cladocera*. Herbivores ou détritivores, les Cladocères assurent une fonction importante dans les transferts de matière et d'énergie de bon nombre d'écosystèmes. Ils prennent part à l'alimentation des poissons planctophages ou omnivores, mais également à celles d'alevins ou d'invertébrés aquatiques [Santiago *et al.*, 2002].

L'espèce *Daphnia magna* Strauss est de la famille des *Daphnideae*. Sa taille, avoisinant les 6 mm, fait d'elle le plus grand représentant du genre *Daphnia*. Ce microcrustacé zooplanctonique dulçaquicole est assez largement répandu dans la zone tempérée de l'hémisphère Nord et est susceptible de coloniser une variété importante de types d'eaux douces : mares, mares temporaires, étangs, lacs, canaux de divers gabarits, cours d'eau à très faibles débits et bassins riches en matière organique et peu oxygénés [Chèvre, 2000] ; [Santiago *et al.*, 2002] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

En observant l'animal, on distingue très clairement : (*i*) son corps qui est latéralement comprimé et recouvert d'un exosquelette transparent (renouvelé par mue à l'occasion des 4 ou 5 étapes de croissance et de la ponte) terminé par une épine apicale plus ou moins longue, située sur sa partie inférieure ; (*ii*) sa tête, qui comprend un œil unique (dont le rôle principal est lié à la perception de la photopériode et au phototropisme) ainsi que deux paires d'antennes. La paire la plus grande sert d'organe locomoteur alors que la deuxième de taille beaucoup plus réduite (et situé sous le rostre) est associée à la prise de nourriture. Le battement des appendices thoraciques crée un courant d'aspiration qui permet à l'animal de filtrer la colonne d'eau et de retenir les particules alimentaires. Le milieu du corps est marqué par le tube digestif qui traverse l'animal de haut en bas se terminant au niveau de la griffe post abdominale. Sur la partie ventrale se situent des appendices formés de minuscules peignes qui permettent de filtrer le phytoplancton essentiel à la nourriture des daphnies. La partie dorsale constitue une chambre de maturation où sont déposés les œufs provenant des ovaires situés de part et d'autre de l'intestin. La daphnie nage en permanence pour assurer sa respiration et son alimentation, excepté lorsqu'elle est soumise à un stress [Chèvre, 2000] ; [Santiago *et al.*, 2002] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

Selon la littérature, les daphnies sont matures 7-8 jours après éclosion, à 20 °C. Les daphnies peuvent se reproduire de manière sexuée ou asexuée. Lorsque les conditions environnementales sont favorables, la reproduction se fait par parthénogenèse (reproduction asexuée faisant intervenir des cellules somatiques) ; les individus femelles matures produisent des œufs à 2N chromosomes qui donneront naissance, après éclosion, à des individus strictement identiques à la mère d'un point de vue génétique (clones). Par contre, lorsque les conditions environnementales sont défavorables, des mortalités peuvent survenir tout comme les femelles peuvent se mettre à produire un certain nombre d'individus mâles qui vont par la suite féconder les femelles. Cette situation conduira à la production d'œuf contenant un embryon dormant (ou œufs de résistances) appelés « éphippie ». Ces derniers peuvent rester en dormance pendant plusieurs mois en attendant le retour de conditions plus favorables qui permettront une reprise du cycle parthénogénétique ; ces œufs donneront des femelles identiques, génétiquement, à leur mère [Santiago *et al.*, 2002] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

Elevage :

En règle générale, on recommande pour les élevages : (i) une température ambiante de 20 ± 2 °C ; (ii) une photopériode de 8 heures d'obscurité et de 16 heures de lumière au moyen d'un éclairage de lumière blanche froide de luminosité inférieure à 1200 lux (pour éviter la prolifération des algues) ; (iii) une alimentation quotidienne avec une solution d'algues unicellulaires et un peu de nourriture pour poisson sous la forme d'un extrait soluble. Il est également conseillé de bien contrôler les

conditions environnementales des élevages car des conditions défavorables telles que les fluctuations de température, la manière de tamiser les daphnies au moment de l'entretien des élevages, la surpopulation, …, peuvent conduire à des mortalités importantes, à la production d'individus mâles, d'éphippies [Santiago *et al.*, 2002].

Dans le cadre de cette étude, les daphnies utilisées sont élevées dans des flacons de 2L au Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE) de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat (ENTPE), par parthénogenèse acyclique. Les conditions générales d'élevage des femelles sont accord avec les principales recommandations en la matière : enceinte réservée aux élevages et maintenue à 20 °C $\pm$ 2 °C ; éclairage suivant un cycle jour/nuit de 16h/8h ; alimentation au moyen d'un mélange de deux algues vertes, issues de culture en laboratoire : *Pseudokirchneriella subcapitata* et *Chlorella vulgaris* ainsi que de Sera Micron (nourriture pour alevins).

L'utilisation de cet organisme pour réaliser des tests écotoxicologiques présente de nombreux avantages. La facilité (relative) de maintenir des élevages, la production de jeunes de façon régulière et en quantité assez élevée, une reproduction parthénogénétique assurant une population stable génétiquement sont autant de facteurs qui consolident l'utilisation de cet organisme. Son immobilisation constitue une réponse d'exploitation facile pour une mesure de toxicité sachant que l'inhibition de la mobilité précède la mort dans la majorité des cas. Sa distribution planétaire et son rôle dans l'écosystème aquatique en font un indicateur intéressant de l'impact potentiel d'un polluant sur l'environnement. De plus, l'antériorité du test avec les daphnies, sa simplicité et son utilisation universelle font que ce bioessai est un standard reconnu pour déterminer l'écotoxicité aiguë de matrices aqueuses ou de substance en solution dans l'eau [Chèvre, 2000] ; [Vesseron, 2000] ; [Santiago *et al.*, 2002] ; [Emmanuel, 2004] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

I.2.2. L'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps)

Anatomie - Biologie - Ecologie :

Les micro-organismes sont connus pour être à la base des écosystèmes aquatiques mais également en raison de leur grande importance écologique [Gilbin, 2001]. Les algues unicellulaires, dont l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps), appartiennent à ce groupe d'organisme. Les algues sont des producteurs primaires, premier maillon du réseau trophique. Dans les écosystèmes aquatiques, la caractéristique principale de ce premier maillon, aux cotés des macrophytes, est de permettre l'entrée du carbone inorganique dans le compartiment biotique par le biais de la photosynthèse. De part leur faible taille, leur forme et leur richesse en carbone, ces micro-organismes constituent généralement une partie importante de la nourriture consommée par le zooplancton (cladocères) [Cauzzi, 2007].

L'algue Ps, anciennement dénommée *Selenastrum capricornutum* puis *Raphidocelis subcapitata* est une algue eucaryote dulçaquicole de la famille des *Chlorophyceae* (ordre des Chlorococcales). Il n'y a pas de division végétative dans cette famille ; la reproduction se fait par zoo-sporulation (2 autospores, le plus souvent). Cette algue verte planctonique constitue l'un des représentants des producteurs primaires. Elle est présente dans une grande diversité de milieux aquatiques mais

affectionne généralement les eaux calmes ; elle est susceptible de se développer dans la colonne d'eau, le sédiment ou sur des supports divers à condition que la lumière soit en quantité suffisante. Elle est également connue pour être sensible à la pollution des écosystèmes [Nygaard *et al.*, 1986] ; [Samoura, 2004] ; [Cauzzi, 2007].

Cet organisme unicellulaire, de petite taille (longueur moyenne de 5 - 6 µm), a une forme de croissant, n'a pas de flagelle et ne forme pas de colonies. Les cellules sont isolées ou groupées en paquets irréguliers et son cytoplasme renferme principalement de la chlorophylle *a*, de la chlorophylle *b* et des pigments caroténoïdes. On la rencontre naturellement dans les lacs d'Amérique du Nord ou de Norvège. La richesse et la disponibilité des nutriments (azote et phosphore) présents dans le milieu, la lumière et le carbone sont des facteurs prépondérants dans son développement [Garric *et al.*, 1993] ; [Parados, 1996] ; [Santiago *et al.*, 2002] ; [Samoura, 2004] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

L'espèce *P. subcapitata* a été utilisée dans un premier temps pour étudier l'impact des nutriments sur la productivité primaire en relation avec l'eutrophisation des milieux aquatiques. Son utilisation s'est ensuite généralisée aux tests écotoxicologiques principalement en raison de sa facilité de culture et de sa croissance rapide. Capable de se multiplier jusqu'à 3 fois par jour, cette algue présente l'intérêt de pouvoir caractériser rapidement une toxicité chronique à un niveau trophique primordial [US EPA, 1978] ; [Nygaard *et al.*, 1986] ; [Santiago *et al.*, 2002].

Culture :

Les algues unicellulaires d'eau douce peuvent être cultivées au moyen de : (i) milieu solide (milieu de culture liquide concentré 1,5x et de la gélose Agar 1,5%) qui facilite un stockage de longue durée des algues ; (ii) milieu de culture liquide qui peut être soit le milieu OCDE-ISO soit le milieu USEPA-Environnement Canada. L'entretien de la culture se fait par repiquage régulier, en conditions stériles, de quelques colonies d'algues mono-spécifiques dans le milieu de culture liquide choisi. Après le repiquage, les nouvelles cultures sont incubées conformément aux conditions de température et d'éclairage spécifiées dans la norme utilitsée [Santiago *et al.*, 2002].

Les algues utilisées dans le cadre de cette étude proviennent de culture en laboratoire suivant les prescriptions de la norme NF T 90-375 [1998]. Les algues sont maintenues en culture dans la salle réservée aux élevages des réactifs biologiques du LSE de l'ENTPE. Les repiquages, réalisés tous les 3 à 4 jours, se font en Erlenmeyer de 100 mL dans du milieu ISO. Les cultures sont contrôlées au microscope au moment des repiquages et au moment de la préparation de l'inoculum. La solution algale utilisée pour la préparation de l'inoculum provient toujours d'une culture en phase exponentielle de croissance.

Les producteurs primaires constituent une cible privilégiée dans le cadre de la contamination par le cuivre [Gilbin, 2001]. De plus, les algues sont réputées sensibles aux pollutions d'origine métallique, notamment *P. subcapitata* en ce qui concerne les substances pures [Santiago *et al.*, 2002]. L'espèce *P. subcapitata* est, par conséquent, bien indiquée dans le cadre de cette étude.

I.3. PROTOCOLES DE PREPARATION DES SOLUTIONS D'ESSAI ET DE REALISATION DES ESSAIS

I.3.1. Solutions d'essai et types de mélanges étudiés

Dans le cadre de ces travaux de recherche, l'écotoxicité de 5 substances seules a été étudiée vis-à-vis de *Daphnia magna* (Dm) et 4 d'entre elles vis-à-vis de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps).

Pour des raisons de faisabilité, l'écotoxicité de l'ammonium (NH_4) n'a été étudiée que vis-à-vis de *D. magna*. Dans un premier temps, cette substance a été testée au moyen d'essais préliminaires vis-à-vis de cet organisme tant sous la forme de nitrate d'ammonium que de sulfate d'ammonium. Les protocoles de réalisation de ces essais préliminaires sont les mêmes que ceux présentés dans le paragraphe I.3.31 ci-dessous. A l'issu de ces essais préliminaires, le sel qui présente la toxicité la plus importante (le sel pour lequel la valeur du critère d'effet observé est la plus faible) est retenu pour la conduite de la suite de l'étude.

En ce qui concerne les mélanges, on s'est intéressé uniquement aux mélanges binaires des substances étudiées. Ainsi, 6 mélanges binaires entre les substances métalliques ont été préparés et testés vis-à-vis du crustacé Dm et de l'algue Ps. Pour l'ammonium, il a été choisi de le tester en mélange avec la substance métallique qui se révèlerait la plus toxique des 4 métaux étudiés vis-à-vis de la daphnie.

Le Tableau 16 récapitule les informations relatives aux solutions synthétiques testées, tant pour les substances que pour les mélanges, vis-à-vis de chacun des organismes tests utilisés.

Tableau 16 : Solutions et mélanges binaires synthétiques testés vis-à-vis de chaque organisme test

	Dm (mobilité - 24 h)		**Ps (croissance de la population - 72 h)**	
Sels utilisés	Nitrate de cadmium Nitrate de cuivre Nitrate de plomb Nitrate de zinc Nitrate et Sulfate d'ammonium		Nitrate de cadmium Nitrate de cuivre Nitrate de plomb Nitrate de zinc	
Mélange binaire	Substance A	Substance B	Substance A	Substance B
	Nitrate de cadmium	Nitrate de cuivre	Nitrate de cadmium	Nitrate de cuivre
	Nitrate de cadmium	Nitrate de zinc	Nitrate de cadmium	Nitrate de zinc
	Nitrate de plomb	Nitrate de cadmium	Nitrate de plomb	Nitrate de cadmium
	Nitrate de plomb	Nitrate de cuivre	Nitrate de plomb	Nitrate de cuivre
	Nitrate de plomb	Nitrate de zinc	Nitrate de plomb	Nitrate de zinc
	Nitrate de zinc	Nitrate de cuivre	Nitrate de zinc	Nitrate de cuivre
	Nitrate ou Sulfate d'ammonium	Nitrate métallique le plus toxique vis-à-vis de Dm		

La verrerie utilisée a été, au préalable, soigneusement nettoyée et décontaminée (avec de l'acide) en vue d'éviter les éventuels apports de contaminants externes dans les solutions d'essai.

Les solutions mères sont obtenues par dilution de 1,00 g de nitrate métallique dans 1 L d'eau ultra-pure. La solution mère de sel d'ammonium est préparée en diluant 10,00 g de substance dans 1 L d'eau. Ce dernier choix repose sur des données bibliographiques existant sur l'écotoxicité de l'ammonium (pour les formes chimiques utilisées) vis-à-vis de la daphnie. Les pesées sont réalisées au moyen d'une balance de précision Mettler AE240.

L'homogénéisation de chaque solution a été assurée par agitation magnétique pendant 10 minutes. A la suite de cette phase de préparation des solutions mères, des mesures de pH ont été effectuées pour chacune de ces solutions ; ces mesures ont été réalisées au moyen d'un Microprocessor pH-meter 99620. Chacune de ces solutions mères est, par la suite, transférée dans des flacons propres et conservées à 4°C pendant 3 mois pour les nitrates métalliques et 1 mois pour les sels d'ammonium. La qualité de ces solutions (en termes d'absence de développement algal ou de formation de précipité visible, …) a été suivie au cours de ces périodes de conservation au moyen de technique adaptée (observation visuelle et au microscope, dosage par SAA, …).

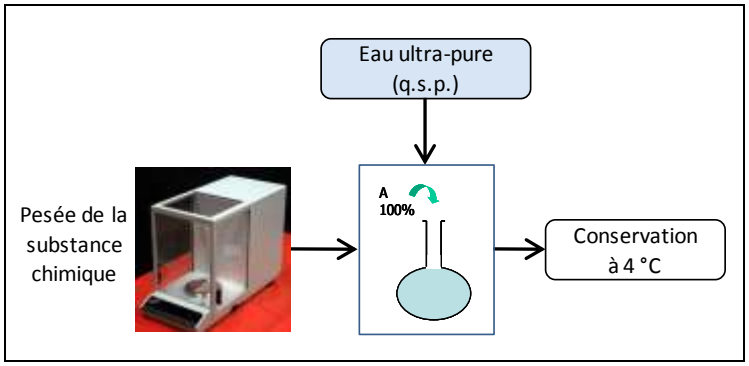


Figure 12 : **Protocole de préparation des solutions mères pour les différentes substances chimiques étudiées**

I.3.2. Protocole de préparation des mélanges binaires

Les solutions mères des mélanges binaires sont préparées, successivement, sur les mêmes bases et selon le même principe utilisé pour la préparation des solutions mères pour les substances. Pour les mélanges binaires entre les sels métalliques, les solutions mères sont préparées à 1,00 g de nitrates métalliques/L. Pour le mélange ammonium/métal, la solution mère est préparée à 10,00 g de sels/L. Les solutions mères ainsi obtenues sont, par la suite, transférées dans des flacons propres et conservées à 4°C.

En vue de mieux cerner les interactions possibles entre des substances en mélange, il est nécessaire de les tester à différentes concentrations les unes par rapport aux autres. D'ailleurs, Yang [1994] stipule que deux ratios différents des mêmes substances en mélange peut induire des effets combinés dissemblables. Ce fait a également été mis en évidence par Otitoloju [2002] dans une

étude sur les effets combinés de mélanges binaires de sels métalliques vis-à-vis du mollusque *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.) (appartenant à la classe des gastéropodes).

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi de travailler sur les mêmes ratios que ceux utilisés par Otitoloju [2002]. Ainsi, chaque mélange binaire est préparé sur la base de cinq ratios différents. Le Tableau 17 présente la composition de chaque ratio pour les différents mélanges binaires réalisés et testés vis-à-vis des organismes tests.

Tableau 17 : Concordance des expressions pour les mélanges binaires (ratio vs % de chaque substance dans le mélange)

Ratio	% dans le mélange	
	Substance A	Substance B
4 : 1	80%	20%
3 : 2	60%	40%
1 : 1	50%	50%
2 : 3	40%	60%
1 : 4	20%	80%

L'utilisation de la première forme d'expression (ratio 1:1 du mélange binaire substance A:substance B, par exemple) ou de son équivalent (50% substance A/50% substance B) pour décrire un mélange binaire est essentiellement régie par des contraintes de commodité de présentation des graphiques et/ou des tableaux.

Trente-cinq mélanges binaires sont testés vis-à-vis de la daphnie et trente mélanges binaires de sels métalliques vis-à-vis de l'algue. La Figure 13 présente le protocole de préparation des différents ratios des mélanges binaires testés. Ainsi, un mélange 80% A/20% B à 1 g/L correspond à 0,8 g de A + 0,2 g de B dans 1 L d'eau.

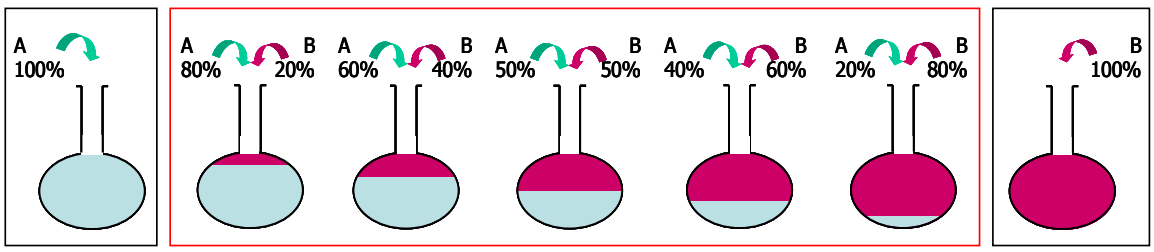


Figure 13 : **Protocole de préparation des solutions synthétiques et des différents ratios de mélanges binaires entre les entités chimiques étudiées (tirée de [Boillot, 2008])**

I.3.3. Protocole de mise en œuvre des essais

I.3.31. Mise en œuvre du bioessai Dm 24 h

L'essai *Daphnia magna* en 24 h est un essai de toxicité aiguë. Il permet de déterminer la concentration initiale qui immobilise, sur la période d'essai (24 h), 50% des daphnies mises en expérimentation. Cet essai est réalisé suivant les prescriptions de la norme internationale NF EN ISO 6341 (T 90-301) [1996] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A).

Les essais sont réalisés au LSE de l'ENTPE. Les jeunes daphnies utilisées (âgées de moins de 24 h) proviennent des élevages du LSE (voir I.2.1., page 109).

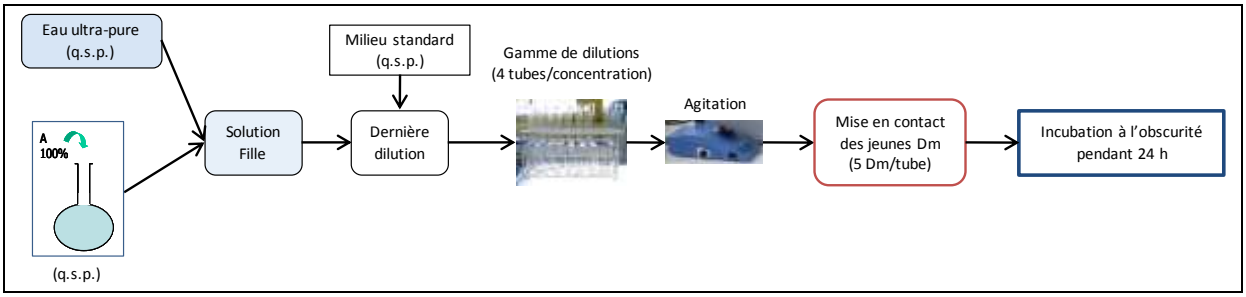


Figure 14 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du bioessai Dm 24 h**

L'essai est réalisé dans des tubes à essai contenant 10 mL de solution d'essai à la concentration désirée. Les solutions d'essai sont obtenues à la suite de trois opérations : (i) la préparation de solutions filles par dilutions successives de la solution mère avec de l'eau ultrapure ; (ii) la préparation de la dilution qui est utilisée pour réaliser la gamme de dilutions dans les tubes à essai se fait avec le milieu standard recommandé dans la norme ; (iii) une quantité suffisante pour atteindre les 10 mL de solution d'essai est ajoutée dans chaque tube à essai.

Pour les essais sur les substances seules, des essais préliminaires sont réalisés en vue de définir la gamme de dilution définitive à tester. En ce qui concerne les mélanges binaires, cette gamme de dilution est réalisée de telle sorte qu'elle encadre la valeur de la toxicité théorique du mélange, estimée au moyen du modèle CA présenté au paragraphe II.3.222 de la synthèse bibliogrpahique.

La gamme de dilution testée est généralement constituée de 6 à 10 concentrations. Un témoin constitué de quatre tubes à essai contenant uniquement 10 mL de milieu standard chacun, est préparé parallèlement à la gamme de dilution pour la solution (substance ou mélange binaire) testée.

Au terme de la période d'expérimentation, le dénombrement visuel des daphnies encore mobiles est réalisé pour chaque tube à essai. Les résultats obtenus sont consignés tant pour les concentrations testées que pour le témoin.

Une première appréciation des données brutes ainsi obtenues passe par le calcul du pourcentage d'inhibition de la mobilité (IM) de la daphnie pour les différentes concentrations mises en expérimentation ainsi que pour le témoin au moyen de l'équation 1.

$$IM_{(\%)} = \frac{N_0 - N_i}{N_0} \times 100 \qquad \textbf{Equation 1}$$

où : IM = pourcentage d'inhibition de la mobilité après la période d'essai (24h)
N_0 = nombre de daphnies mobiles en début d'essai (20, au total)
N_i = nombre de daphnies immobilisées en fin d'essai (après 24h) pour chaque concentration

Les paramètres permettant de valider les résultats sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme [NF EN ISO 6341 (T 90-301), 1996].

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outil adapté (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de la CE_{50}-24h pour l'échantillon testé.

I.3.32. Mise en œuvre du bioessai Ps 72 h

L'essai d'inhibition de la croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) en 72 h est un essai de toxicité chronique qui permet d'évaluer la concentration initiale de la solution testée qui inhibe la croissance de la population algale mise en expérimentation. Cet essai est réalisé suivant les prescriptions de la norme NF T 90-375 [1998] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A).

Les essais sont réalisés au LSE de l'ENTPE. Les précultures d'algues utilisées (en phase exponentielle de croissance) proviennent des cultures algales de laboratoire (voir I.2.2., page 111). L'inoculum utilisé répond aux exigences d'une concentration cellulaire initiale de l'ordre de 10^4 cellules/mL (comptage au microscope optique sur une cellule de Thomas).

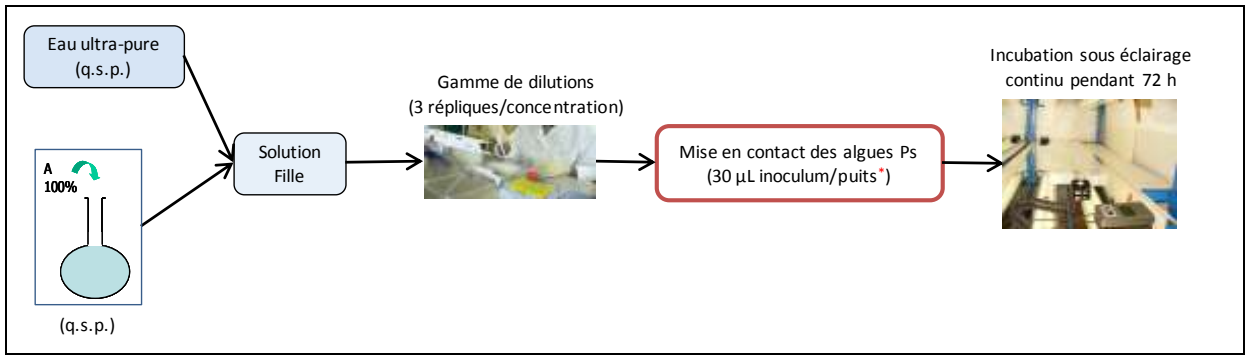


Figure 15 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du bioessai Ps 72 h (* : Pas d'inoculum dans les témoins négatifs)**

L'essai est réalisé dans des microplaques pour un volume total de travail de 300 µL par puits. En ce qui concerne les puits contenant des solutions d'essai, la concentration désirée est obtenue à la suite de deux opérations : (i) la préparation de solutions filles par dilutions successives de la solution mère avec de l'eau ultrapure ; (ii) le mélange dans les puits d'essai des volumes appropriés de : l'échantillon à expérimenter, le Concentré Nutritif (C.N.) à raison de 10% du volume de travail, de l'eau ultrapure (q.s.p. atteindre le volume de travail) et, finalement, l'inoculum à raison de 10% du volume de travail.

Des essais préliminaires sont réalisés pour les différentes solutions (substances seules ou mélanges binaires) en vue de définir la gamme de dilution définitive à tester. Cette gamme définitive est généralement constituée de 5 ou 6 concentrations à tester à raison de trois répliques par concentration. Un témoin (dénommé également témoin positif) constitué de trois répliques est préparé parallèlement à la gamme de concentrations testée. Les puits témoins contiennent, chacun, le C.N. (10% du volume de travail), de l'eau ultrapure (80% du volume de travail) auxquels on rajoute l'inoculum (10% du volume de travail).

Deux témoins négatifs sont également préparés en plaçant dans certains puits le C.N. (10% du volume de travail), un certain volume de solution d'essai et de l'eau ultrapure (q.s.p. atteindre le volume de travail). Dans le cadre de cette étude, les volumes utilisés pour la préparation des témoins négatifs sont la plus forte et la plus faible concentration testées, à raison de trois répliques par concentration.

Cet essai est réalisé sur la base de la mesure des concentrations cellulaires en début et fin d'essai. Ainsi, au terme de la période d'expérimentation, les mesures de concentration algale (N_T) sont réalisées pour chaque puits d'essai par comptage au microscope optique, sur une cellule de Thomas. Les résultats obtenus sont consignés tant pour les concentrations testées, les témoins et les témoins négatifs en vue de favoriser par la suite l'estimation de la CE_{50}-72h (notée également, CI_{50}-72h) de la croissance de la population d'algue Ps.

Une première appréciation des données brutes obtenues passe d'abord par le calcul du taux de croissance algale moyen ($\bar{\tau}$) pour les différentes concentrations mises en expérimentation ainsi que pour le témoin au moyen de l'équation 2.

$$\bar{\tau} = \frac{\overline{lnN_i} - \overline{\ln N_0}}{t} \times 100 \qquad \textbf{Equation 2}$$

où : $\bar{\tau}$ = taux de croissance algale moyen

$\overline{N_0}$ = nombre moyen de cellules en début d'essai (10^4 cellules/mL)

$\overline{N_i}$ = nombre moyen de cellules en fin d'essai (après 72h) pour chaque concentration « i » et pour le témoin

Les paramètres permettant de valider l'essai sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme [NF T 90-375, 1998]. Une fois ces paramètres validés, on procède par

la suite au calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance algale (IC) pour les différentes concentrations mises en expérimentation, par rapport au témoin, selon l'équation 3.

$$IC_{(\%)} = \frac{\overline{N_T} - \overline{N_i}}{\overline{N_T}} \times 100$$ **Equation 3**

où : IC = pourcentage d'inhibition de la croissance à 72h

$\overline{N_T}$ = nombre moyen de cellules (ou $\overline{\tau_T}$ ou équivalent) à 72h dans la solution témoin

$\overline{N_i}$ = nombre moyen de cellules (ou $\overline{\tau_i}$ ou équivalent) à 72h dans la concentration « i » de la solution d'essai

Les données expérimentales ainsi obtenues (lorsqu'elles le permettent) sont traitées au moyen d'outil adapté (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de la CE_{50} 72h pour l'échantillon testé.

I.4. TRAITEMENT DES RESULTATS

L'une des finalités de cette étude sur l'écotoxicité des substances retenues est d'aboutir à une comparaison entre ces substances. Il en est de même pour l'étude de l'écotoxicité des mélanges binaires réalisés. Mais, cette comparaison ne sera possible que si : (i) ces différentes substances ont été testées au moyen du même organisme test, et (ii) les résultats sont synthétiquement exprimés de la même manière. Isnard *et al.* [2001] ont souligné que le choix du modèle influence les résultats obtenus (CE_x, NOEC, LOEC) dans le cadre du traitement statistique des données écotoxicologiques, surtout en ce qui concerne la valeur de CE_5 ou de CE_{10}. Gilbin [2001] soutient que le calcul de la CE_{50} est plus précis et robuste, et donc préférable au moins dans des études de comparaison de toxicité.

Dans le cadre de cette étude sur l'écotoxicité des substances et des mélanges binaires, la CE_{50} a été choisie comme forme d'expression des résultats. La valeur de CE_{50} pour la substance ou le mélange binaire concerné est estimé au moyen de la macro « REGTOX » (EV 7.0.5). Cette macro est la version remaniée pour Excel d'un logiciel de calcul des données de toxicité basé sur l'équation de Hill [1910]. Cet outil de régression non linéaire, développé par Vindimian *et al.* [1983], permet d'estimer les Concentrations d'Effet (CE_x) ainsi que leurs intervalles de confiance (95 % et 99% étant les plus classiques). Les intervalles de confiance sur les paramètres mesurés sont estimés par une simulation de type « Bootstrap » qui est totalement non paramétrique et considérée comme bien adaptée aux modèles non linéaires [Efron, 1981; Vindimian, 2003].

Les valeurs CE_{50} ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% (IC 95%) ont été estimés par simulation sur les résidus pondérés (500 simulations). Les résultats sont exprimés en « mg/L ou µg/L de sel de substance » pour les essais sur les substances seules ou en « mg/L ou µg/L de mélange de sels » pour les essais sur les mélanges binaires.

Les résultats expérimentaux ont également été utilisés pour tracer des courbes concentrations-effets vis-à-vis de l'organisme test. La comparaison de l'écotoxicité des substances et des mélanges

binaires étudiés a donc été établie au moyen des courbes concentrations-effets et des valeurs de CE_{50} estimées.

En ce qui concerne la nature des effets combinés des mélanges binaires étudiés, le modèle des TI (Toxicity Index) a été utilisé pour dégager les caractéristiques générales des interactions de chacun des ratios des différents mélanges. Ce modèle, déjà présenté dans la partie bibliographie de ce document (paragraphe II.3.222), est l'un des modèles permettant d'apprécier les effets combinés de mélanges préparés sur la base de différents ratios des substances en mélange [Yang, 1994 ; Boillot, 2008].

I.5. SPECIATION DES ELEMENTS CHIMIQUES DANS LES SOLUTIONS SYNTHETIQUES

Morel [1983] a mis en place le Modèle de l'Ion Libre (MIL) ou « Free-Ion Model (FIM) » qui a été, par la suite, décrit en détail par Campbell [1995]. Selon le MIL ou FIM, la biodisponibilité des métaux cationiques envers les organismes aquatiques devrait suivre les variations de la concentration de l'ion métallique libre (M^{z+}) dans le milieu d'exposition. Et, selon l'INERIS [2004], l'interaction entre les organismes vivants et le métal est une fonction dépendante, entre autres, de la forme sous laquelle le métal se trouve dans le milieu.

Casas [2005] souligne que plusieurs études en laboratoire suggèrent, que dans le milieu aquatique, l'assimilation est proportionnelle à la concentration en ion libre (M^{z+}) et non à la concentration totale du métal en solution. Or, cette concentration en ion libre dépend également du milieu dans lequel se trouve l'élément chimique concerné. De ce fait, les milieux d'essais utilisés jouent un rôle important sur cette concentration en ion libre. En effet, ces milieux d'essai contiennent, généralement, des ligands minéraux (HCO_3^-, CO_3^{2-}, Cl^-, SO_4^{2-}, ..), organiques ou synthétiques (EDTA, …) qui influent sur la spéciation en raison de leur capacité à former des complexes avec les cations. D'ailleurs, Sigg *et al.* [2006] ont montré, dans le cas du Cu par exemple, que la concentration en ions aqueux libres Cu^{2+} diminue en présence de complexants organiques forts.

Pour tenir compte de ces aspects, nous avons choisi, dans le cadre de cette étude, de procéder à une estimation de la concentration en ion libre des éléments chimiques utilisés, au moyen de calculs de spéciation. Comme indiqué dans la partie bibliographie (point I.2.5, page 48), l'un des moyens le plus utilisé pour évaluer la répartition des différentes formes chimiques d'un élément est la spéciation théorique au moyen de programme de calcul de spéciation, ce qui permet de prendre en compte un nombre important d'espèces chimiques. Les résultats de ces calculs pourront nous apporter des éléments d'information pour une meilleure appréciation des effets toxiques qui seront mis en évidence au moyen des bioessais utilisés.

Les calculs de spéciation pour les éléments testés (Cd, Cu, Pb, Zn et NH_4), sur la base de solutions seules ou de mélanges binaires, ont été réalisés à l'aide du code de calcul PHREEQC [Parkhurst et Appelo, 2008], en vue de se faire une idée des concentrations « réelles théoriques » de ces éléments chimiques dans les solutions d'essai, avant la mise en contact des organismes. Au moyen de ce programme, il est donc possible de calculer, entre autres, l'atteinte de la saturation par rapport à certaines espèces solides et les différentes formes des métaux dissous.

En raison du nombre de solutions testées, nous avons procédé à certains choix pour la réalisation des calculs de spéciation. Ainsi, pour chacun des substances ou mélanges binaires testés, nous avons réalisé des calculs pour la plus forte et la plus faible concentration de la gamme de dilutions testée. En ce qui concerne les mélanges binaires, cet exercice a été réalisé uniquement pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) de chaque couple étudié.

Nous tenons également à signaler que ces calculs de spéciation ne prennent pas en compte la composante biologique (l'organisme test) rajoutée dans les tubes à essai (*D. magna*) ou dans les puits d'essai (*P. subcapitata*) des microplaques.

PROPOSITION D'UNE METHODOLOGIE D'EVALUATION DES RISQUES ECOTOXICOLOGIQUES (EDREcotox) LIES AU DEVERSEMENT DE RUTP DANS LES COURS D'EAU

APPROCHE *A PRIORI*

II. PROPOSITION D'UNE METHODOLOGIE D'EDRECOTOX LIES AU DEVERSEMENT DE RUTP DANS LES COURS D'EAU - APPROCHE *A PRIORI*

Cette section du document est dédiée à la présentation de la méthodologie générale proposée pour évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans un milieu aquatique lotique. Cette proposition se base sur des approches méthodologiques qui ont été développées pour d'autres types de scenario et dont une synthèse a été présentée dans la partie bibliographie (voir II.2 Les méthodologies d'évaluation des risques écologiques ou écotoxicologiques existantes, page 63).

La démarche proposée pour le scénario de cette étude s'articule autour des trois étapes classiques des méthodologies existantes :

- **la formulation du problème** qui présente les éléments d'information nécessaires à la description du scenario d'étude et à la proposition d'un modèle conceptuel ;
- **la phase d'analyse** qui est consacrée à la présentation des approches proposées pour la caractérisation de l'exposition des organismes du milieu récepteur, et la caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP étudiés ;
- **la caractérisation du risque** qui présente les différentes approches proposées pour estimer les risques auxquels les organismes du milieu récepteur considéré sont exposés.

L'analyse des résultats découlant de ce processus d'EDREcotox permettra d'apprécier les informations générées par la méthode proposée pour ce type de scénario.

Il est important de préciser que cette méthodologie est proposée en vue de **prédire les risques écotoxicologiques découlant du déversement direct de la source polluante étudiée (RUTP) dans un écosystème aquatique d'eau douce (rivière)**. Elle peut donc s'appliquer aussi bien à une source polluante existante ou en rapport à un projet d'installation d'une infrastructure de drainage et de déversement de RUTP dans un milieu aquatique lotique.

II.1. FORMULATION DU PROBLEME

Cette première phase, essentiellement qualitative, est destinée à présenter le problème. Pour réaliser cette présentation, nous avons émis, au préalable, l'hypothèse suivante :

Le déversement direct de RUTP dans un écosystème aquatique d'eau douce peut être à la base de conditions conduisant à une altération du bon fonctionnement de cet écosystème en ayant, par exemple, des impacts négatifs sur les organismes vivants, dans au moins un des compartiments du cours d'eau.

Sur la base de cette hypothèse, nous proposons un scénario d'étude ainsi que les approches retenues pour la vérification de cette hypothèse. Précisons que dans le cadre de cette étude, nous ne nous sommes intéressés qu'à une exposition directe des organismes du milieu récepteur aux RUTP. Les expositions indirectes via la chaîne trophique n'ont pas été prises en compte dans cette première version de méthodologie.

Les différentes étapes permettant de décrire la situation étudiée sont présentées de manière détaillée dans les paragraphes suivants.

II.1.1. Contexte et scénario d'étude

Cette approche méthodologique est élaborée en vue d'évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement direct de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les milieux aquatiques d'eau douce. La **Figure 16** constitue une représentation schématique générale du scénario d'étude.

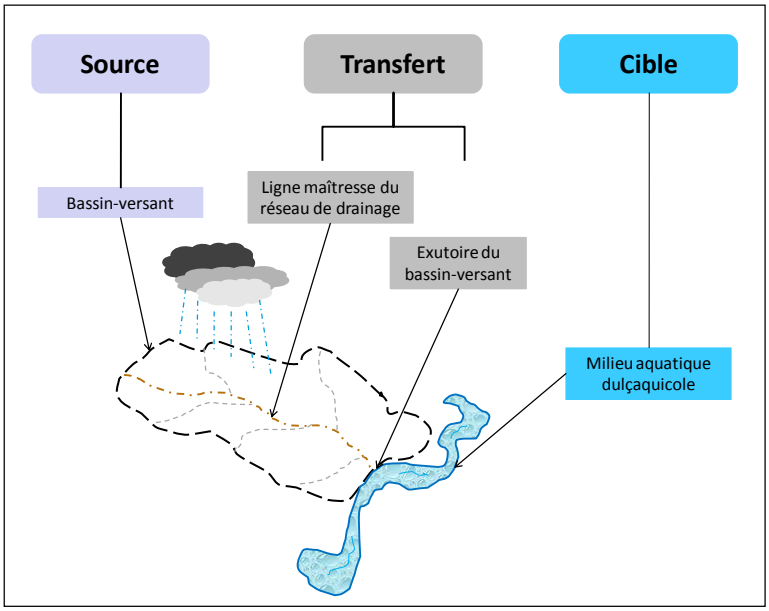


Figure 16 : **Représentation schématique du scénario d'étude**

Dans le cadre de notre étude, nous nous intéresserons uniquement au rejet qui aboutit à une rivière sans transiter par un ouvrage intermédiaire d'abbatement de la pollution. En d'autres termes, il n'existe pas de STation d'EPuration (STEP) ni d'ouvrages de rétention entre la source de pollution et le milieu récepteur.

En ce qui concerne la source de pollution, nous nous sommes placés à l'échelle du bassin-versant (BV) pour estimer le débit que l'on est susceptible de retrouver à son exutoire. Le BV est la surface réceptrice de la pluie qui, à tout point, associe un cheminement hydraulique aboutissant à un exutoire donné ; le bassin-versant transforme une pluie précipitée en débits évacués par un système de drainage artificiel ou non. L'exutoire d'un BV peut être situé sur un cours d'eau, sur une canalisation ou sur tout autre élément du réseau hydrographique. L'un des intérêts de ce choix réside dans le fait de disposer d'une unité spatiale présentant certaines caractéristiques bien définies ; dans un contexte urbain, le BV est l'unité à partir de laquelle est définie l'organisation globale du réseau de drainage d'une agglomération urbaine [Chocat, 1997].

Il importe de signaler que le débit considéré est fonction de l'importance de la pluie qui l'a généré. Par conséquent, la pluviométrie est à prendre en compte dans le cadre de ce processus d'évaluation des risques. Il est, de ce fait, nécessaire de fournir une bonne description du BV, en intégrant les principales activités génératrices de pollution que l'on y rencontre de même que toutes informations pertinentes à la compréhension des résultats qui découleront de l'évaluation des risques réalisée.

Un autre élément fondamental du scénario étudié concerne le milieu récepteur. Nous avons choisi de travailler sur le milieu naturel lotique, ce qui constitue l'un des cas de figure en terme de destination finale des rejets liquides, traités ou non. Les milieux récepteurs naturels ou artificiels de types lac, STEP, bassin de rétention-infiltration, milieu marin, … ne sont pas pris en compte.

Ces précisions sont importantes pour la poursuite des autres étapes de cette proposition de méthodologie. Cette méthodologie devant être appliqués à deux *scenarii* différents, l'un en France et l'autre en Haïti, les détails concernant chacun de ces *scenarii* spécifiques seront présentés dans leur partie respective.

De manière très générale, il importe donc de recueillir les données essentielles à une bonne description du scénario général. A ce stade, nous devons rechercher les informations sur : la taille du bassin-versant considéré, le mode de transfert du rejet jusqu'au milieu naturel, le débit à l'exutoire du BV au cours de l'épisode pluvieux concerné, les principales activités polluantes recensées au sein de ce BV, le débit de la rivière concernée, la pluviométrie, …

II.1.2. Paramètre d'évaluation et modèle conceptuel

II.1.21. Stresseurs, traceurs de risque et Source d'émission

Stresseurs et traceurs de risque :

L'identification des stresseurs contenus dans les RUTP peut être réalisée de trois manières différentes :

1. en se basant sur la bibliographie relative à la composition des RUTP en général ;
2. par l'analyse des données recueillies lors de l'étape précédente (présentation du contexte et du scénario d'étude), en particulier celles relatives aux polluants émis sur le bassin-versant ;
3. en réalisant une caractérisation des RUTP au niveau de leur point de déversement dans le milieu récepteur.

Nous avons retenu la 3ème méthode pour notre étude, dans la mesure où les deux *scenarii* étudiés correspondent à des situations existantes.

Dans le cadre de cette étude, nous n'avons procédé qu'à la caractérisation physico-chimique de l'échantillon de RUTP concerné. Nous n'avons pas pris en compte les composantes bactériologiques ni les radioéléments qui pourraient être présents dans les échantillons de RUTP concernés.

Pour la caractérisation physico-chimique, il est préférable de procéder à une analyse « complète ou du moins détaillée » de l'échantillon. Les données bibliographiques existant sur ce type de rejet

permettent de sélectionner les principaux polluants à retenir dans le cadre de cette caractérisation physico-chimique. La connaissance des principales activités polluantes rencontrées au sein de l'unité géographique étudiée constitue également un élément important dans la sélection des paramètres à doser. Sur la base des résultats des analyses physico-chimiques, on pourra par la suite sélectionner les traceurs de risque pour le scénario étudié.

La phase particulaire des RUTP étant connue pour sa capacité à véhiculer une part importante de la pollution de ce type de rejet, il est donc essentiel de doser (dans la mesure du possible) les stresseurs tant dans la phase dissoute de l'échantillon que dans la phase particulaire.

Cette étude porte sur deux *scenarii* différents : l'un pour une ville française et l'autre pour une ville haïtienne. Les informations relatives aux stresseurs dosés, aux polluants traceurs de risque retenus, ainsi que les critères sur lesquels les choix reposent, sont présentés individuellement pour chacun des *scenarii* étudiés.

Source d'émission :

La source génératrice des stresseurs est étroitement liée à l'unité géographique étudiée et à l'exutoire considéré. Dans le cadre de notre étude, le bassin-versant (BV) constitue l'unité géographique considéré et la génération des stresseurs découle des différentes activités polluantes qui y sont recensées.

En raison de la spécificité de chacun des *scenarii* étudiés, l'exutoire considéré pour les BV d'étude est différent :

- un déversoir d'orage (DO) dans le cadre du scénario français ;
- pour le scénario d'Haïti, on a travaillé sur un canal de drainage le long duquel deux points de prélèvement ont été choisis.

Ainsi, ces différents exutoires constituent les sources d'émission des stresseurs, par rapport au milieu récepteur.

II.1.22. Voie de transfert - Evaluation de l'exposition

La ligne maîtresse du réseau d'assainissement du BV, qui draine le rejet jusqu'à l'exutoire considéré, constitue le seul moyen de transfert retenu dans le cadre de notre étude. Ainsi, les apports diffus éventuels qui atteignent le milieu récepteur en amont ou en aval de ce point de déversement ne sont pas pris en compte puisqu'ils n'ont pas été caractérisés.

Cette considération permet de définir un profil d'exposition pour les organismes cibles des deux compartiments (colonne d'eau et sédiment) du milieu récepteur considéré. La définition de ce profil requiert la connaissance des débits en jeu : débit disponible à l'exutoire du BV et le débit de la rivière concernée, surtout en ce qui concerne les organismes de la colonne d'eau. La confrontation de ces débits et de leur évolution permet d'estimer à quelles concentrations des traceurs de risque retenus les organismes cibles de la colonne d'eau sont exposés.

Pour les organismes du compartiment « sédiment » certaines hypothèses simplificatrices ont été faites afin de faciliter l'évaluation de l'exposition pour les organismes de ce compartiment.

Des informations plus détaillées sur l'évaluation de l'exposition sont présentées dans le paragraphe II.2.2 sur la caractérisation de l'exposition.

II.1.23. Ecosystème à protéger

L'écosystème à protéger est représenté par la rivière dans laquelle les RUTP sont déversés. La protection d'un tel écosystème implique la protection de sa partie physique mais également des organismes vivants qui s'y trouvent.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés essentiellement aux organismes vivant dans un tel écosystème. Ces derniers sont considérés comme les principales cibles à protéger vis-à-vis de ce type de rejet. Deux groupes d'organismes sont pris en compte : ceux vivant dans la colonne d'eau et ceux vivant dans les sédiments des zones benthique et hyporhéique de la rivière. Ainsi, des représentants de chacun de ces groupes d'organismes ont été sélectionnés en vue de caractériser les effets écotoxicologiques de ce type de rejet pour les cibles du milieu récepteur.

Trois des quatres types d'approche présentés dans la partie bibliographique sont retenus pour caractériser ces effets. Il s'agit des approches : « substances », « substances avec effets combinés » et « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques. Toutefois, en ce qui concerne le compartiment « sédiment » de la rivière, la caractérisation des effets suivant l'approche « substances avec effets combinés » n'est pas appliquée pour des raisons d'absence de données dans la littérature sur des effets combinés pour les organismes de ce compartiment et représentatifs du milieu récepteur étudié.

II.1.24. Proposition d'un modèle conceptuel

L'ensemble des considérations décrites dans les paragraphes précédents est synthétisé au moyen d'un schéma (**Figure 17**) qui présente une proposition de modèle conceptuel pour ce type de scénario.

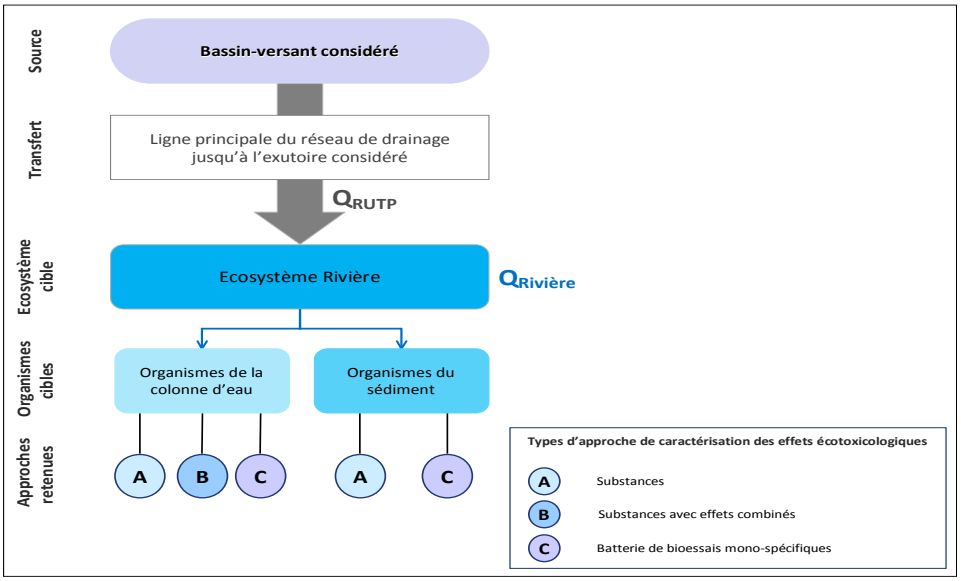


Figure 17 : **Modèle conceptuel « simplifié » proposé pour le scénario étudié**

Les détails concernant les approches retenues pour la caractérisation des effets écotoxicologiques vis-à-vis des organismes cibles seront présentés dans la partie destinée à la description de cette phase de caractérisation (voir paragraphe II.2.3, page 136). Les informations sur les organismes représentatifs des organismes cibles retenus sont également présentées dans ce paragaphe.

II.1.3. Plan d'analyse

Pour Emmanuel [2004], le plan d'analyse est un produit explicite de la formulation du problème. Pour Suter II [2006], c'est le dernier élément de la phase formulation du problème. Dans le cadre de développement, de proposition de nouvelles méthodologies ou dans le cas d'une étude spécifique à un scénario donné Suter II [2006] indique qu'il est préférable de concevoir un plan d'analyse adapté au cas traité.

Dans le cadre de cette proposition de méthodologie d'EDREcotox liés au déversement de RUTP dans un cours d'eau, nous avons donc développé un plan d'analyse sur la base de la proposition de Suter II [2006] pour les effluents et d'autres plans d'analyse proposés pour des situations générales ([Donguy et Perrodin, 2006]) ou de scénario spécifique ([Boillot, 2008]).

Le Tableau 18 synthétise le plan d'analyse proposé dans le cadre de cette méthodologie d'EDREcotox. Elle correspond à une version adaptée du plan d'analyse proposé par Boillot [2008].

Tableau 18 : Plan d'analyse de la méthodologie d'EDREcotox proposée

Types d'approche	Caractérisation de l'exposition	Caractérisation des effets		Indice de risque
		Compartiment Eau	Compartiment Sédiment	
Substances	• Débit du RUTP à l'exutoire considéré pour le BV concerné • Détermination de la concentration en polluants du RUTP • Acquisition de l'historique de débits du cours d'eau récepteur	• Acquisition des $PNEC_{eau\ douce}$ pour les traceurs de risque retenus, à partir des BDI d'écotoxicologie **ou** • Application d'un facteur d'extrapolation approprié aux données d'écotoxicité existantes	• Acquisition des $PNEC_{sédiment}$ pour les traceurs de risque retenus, à partir des BDI d'écotoxicologie **ou** • Application d'un facteur d'extrapolation approprié aux données d'écotoxicité existantes	$\frac{\text{Exposition}}{\text{Effets}}$
Substances avec effets combinés		• Acquisition des $PNEC_{eau\ douce}$ à partir des BDI d'écotoxicologie **et** • Intégration des tendances dégagées de l'étude des effets combinés **ou** • Application d'un facteur d'extrapolation approprié aux données d'écotoxicité existantes sur les effets combinés des traceurs		
Matrice au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques		• Détermination des réponses (CE_{20}) de la batterie de bioessais • Détermination du $PNEC_{eau\ douce}$ en retenant l'essai le plus sensible auquel est appliqué un facteur d'extrapolation approprié	• Détermination des réponses (CE_{20}) de la batterie de bioessais • Détermination du $PNEC_{sédiment}$ en retenant l'essai le plus sensible auquel est appliqué un facteur d'extrapolation approprié	

Dans le cadre des approches « substances » et « substances avec effets combinés », décrites dans le plan d'analyse, le choix des polluants traceurs de risque se fait au cours de la caractérisation de l'exposition.

Notons, toutefois, qu'il est possible d'être confronté à une insuffisance de données écotoxicologiques exploitables issues des Bases de Données Internationales (BDI), rendant difficile la phase de quantification de l'indice de risque. Face à une telle situation, on peut procéder, dans la mesure du possible, à une appréciation qualitative du risque.

II.2. PHASE D'ANALYSE

Cette phase comprend essentiellement les deux opérations parallèles suivantes : la caractérisation de l'exposition et la caractérisation des effets écotoxicologiques. Avant de les présenter de manière détaillée, nous développons certaines généralités relatives à des actions qui favorisent le bon déroulement de ces deux opérations.

II.2.1. Choix réalisés

La conduite de cette phase d'analyse a nécessité la prise de certaines décisions stratégiques qui portent aussi bien sur le processus de caractérisation de l'exposition (nombre de campagne de prélèvements à réaliser, période de réalisation des campagnes de prélèvement, le choix des points de prélèvement, les campagnes d'analyses, …) que sur le processus de caractérisation des effets écotoxicologiques (les approches retenues, les bioessais retenus, …). Les détails relatifs à ces différents choix sont développés dans les paragraphes ci-dessous.

II.2.11. Campagne de prélèvements

Notre souci premier a été de programmer la campagne de prélèvement, tant en France qu'en Haïti, au cours d'une période dite « critique ». Cette notion de période critique porte sur deux aspects :

- le premier lessivage du bassin-versant suite à une période de « temps sec »[1] : ainsi, nous avons défini une période de temps sec, arbitraire, de telle sorte que l'échantillon de RUTP récupéré soit le premier lessivage du bassin-versant suite à cette « durée de temps sec »[2] ;
- récupérer les premières arrivées d'eau au niveau de l'exutoire considéré : cette période peut être considérée comme celle où les RUTP sont les plus chargés en polluants. Nous avons opté, en prenant en compte les dispositifs de prèlevement disponibles selon le scénario étudié (français ou haïtien), de procéder au prélèvement d'un échantillon moyen dans un intervalle de temps inférieur à une heure.

[1] Chocat [1997] définit le « temps sec » comme étant la période de temps telle que les précipitations ne perturbent pas le fonctionnement du système d'assainissement. Il souligne que la définition de telles périodes n'est pas toujours facile.

[2] Durée de temps sec : intervalle de temps séparant deux événements pluvieux distincts et significatifs. La durée de temps sec précédant un événement conditionne la quantité de polluants qui peut s'accumuler sur les sols urbains, dans les caniveaux et à l'intérieur du réseau. Ce paramètre influence donc significativement la charge polluante contenue dans les eaux de ruissellement pour un événement pluvial donné [Chocat, 1997].

Néanmoins, il a également fallu intégrer la contrainte des périodes d'alternance annuelle de la thèse entre Haïti (avril à début septembre) et la France (début septembre à fin mars) afin de les faire concorder avec une période arbitraire de temps sec pour chacun de ces pays.

En prenant en compte ces aspects, la campagne de prélèvement a eu lieu au début du mois de février 2007 pour la France et au début du mois de septembre 2007 pour Haïti. Les informations relatives à chacune de ces campagnes de prélèvements sont respectivement présentées dans les paragraphes III.3 (page 161) pour la France et IV.3 (page 180) pour Haïti.

II.2.111. Critères de choix des points de prélèvement

Le critère principal sur lequel le choix du ou des points de prélèvements a été réalisé pour chacun des *scenarii* étudiés repose sur deux éléments : (i) la volonté de disposer d'un point connu de concentration des RUTP avant leur déversement dans le milieu récepteur ; (ii) le point choisi doit permettre de récupérer un échantillon de RUTP représentatif pour le bassin-versant étudié. En effet, en couplant ces deux éléments on a souhaité prélever un échantillon issu du lessivage du bassin-versant et non conditionné par une activité prédominante au sein du bassin.

Pour la France, nous avons choisi de travailler sur une problématique péri-urbaine. Notre choix s'est portée sur la commune de Grézieu-La-Varenne où il existe un dispositif métrologique permettant de quantifier les rejets urbains dans cette commune via un Déversoir d'Orage (DO) situé au niveau du Pont de la Barge. Ce dispositif a été mis en place en 2001 au niveau de la rivière Chaudanne dans le cadre de l'OTHU (Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine). Le bassin-versant (BV) qui y a été défini sert de site de recherche pour plusieurs équipes multi-disciplinaires (CEMAGREF de Lyon, INSA de Lyon, ENTPE, Université Lyon 2, …) qui sont intéressées par la problématique péri-urbaine. Le point de prélèvement retenu est donc ce déversoir d'orage (DO) qui se jette dans une petite rivière qui longe ce bassin-versant. Ce DO est l'un des points au niveau duquel le CEMAGREF de Lyon a installé des équipements de mesures physiques et chimiques. Au sein de ce BV et le long de la rivière Chaudanne, il existe trois bungalows, dont l'un au niveau du Pont de la Barge (bungalow 1), qui contiennent des préleveurs automatiques et des appareils permettant d'effectuer des mesures de débit, conductivité, pH, turbidité, oxygène dissous. La possibilité de disposer d'un préleveur automatique au niveau du DO constitue l'un des atouts majeurs de ce site, car on sera en mesure de le mettre en marche pour procéder au prélèvement de l'échantillon de RUTP dès le début de la pluie, ceci à n'importe quel moment du jour ou de la nuit. Les détails en rapport au bassin-versant de la Chaudanne sont présentés dans le paragraphe III.2 (page 159) de la Partie B « Matériels et Méthodes » et la Section IV (page 290) de la Partie C « Résultats ».

Dans le cas d'Haïti, la situation est différente. En effet, les villes haïtiennes présentent une faible couverture en réseau de drainage. Seules quelques grandes villes haïtiennes disposent d'un réseau de drainage, plutôt unitaire et le plus souvent inachevé. De plus, les réseaux existants servent également évacuer de nombreux déchets (déchets solides des ménages, déchets de construction, …), ce qui diminue leur efficacité à remplir leur fonction première qui est d'évacuer adéquatement les rejets liquides. Un autre élément relatif aux critères de choix du site de prélèvement concerne le fait qu'en Haïti il n'existe pas de sites instrumentés nous permettant de nous défaire de la contrainte

d'être obligatoirement sur place au moment de l'épisode pluvieux pour prélever l'échantillon de RUTP. Or, en Haïti, les épisodes pluvieux sont généralement de fortes intensités et de durée relativement courte (des pluies d'orage tropicales) et ils surviennent surtout la nuit. Par conséquent, il a fallu retenir un site accessible et à proximité de l'université pour permettre le transfert rapide des échantillons au laboratoire. Les conditions sécuritaires du pays ont également joué un rôle prépondérant dans le choix du site de prélèvement car ces dernières sont plutôt difficiles d'accès en Haïti et encore plus la nuit.

Sur la base de ces contraintes majeures, il a été fait le choix de travailler à Port-au-Prince, la capitale d'Haïti et de retenir le Canal Bois-de-Chêne comme site de prélèvement. Ce choix a nécessité la prise d'autres décisions en rapport au scénario d'étude pour la ville haïtienne. Les informations relatives aux spécificités du site retenu et des dispositions adoptées sont présentées dans le paragraphe IV.2 (page 177) de la « Partie B : Matériels et Méthodes » et la section V (page 304) de la « Partie C : Résultats ».

II.2.112. Préparation des échantillons

Suite à la campagne de prélèvements, l'échantillon prélevé a été transporté au laboratoire où il a été homogénéisé manuellement puis partagé en deux parties principales : une fraction destinée à la caractérisation physico-chimique et une autre fraction, à la caractérisation écotoxicologique. Le surplus a été transféré dans des flacons en polyéthylène puis conservé par congélation. Les spécificités liées à chacun des *scenarii* étudiés (en France et en Haïti) nous ont conduit à faire certains choix pour caractériser les échantillons de chacun de ces *scenarii*. Ces choix sont présentés en détail dans les sections dédiées à la caractérisation de chacun de ces échantillons.

De manière très générale, nous pouvons dire que :

- la fraction destinée à la caractérisation physico-chimique a été répartie, après homogénéisation manuelle, dans différents flacons (en verre ou en polyéthylène) préconditionnés en fonction des paramètres à doser. La liste des paramètres retenus est présentée dans le paragraphe III.4 (page 162) pour l'échantillon de RUTP prélevé en France et dans le paragraphe IV.4 (page 182) pour les échantillons de RUTP prélevés en Haïti. Les dispositions adoptées pour caractériser ces échantillons d'origine différente sont présentées, individuellement, dans les sections concernées ;
- la fraction destinée à la caractérisation écotoxicologique a été conservée à 4 °C tout au long de la période de réalisation des bioessais retenus. Toutefois, en ce qui concerne les échantillons de RUTP prélevés en Haïti, il a fallu les subdiviser en deux parties : une partie conservée à 4 °C pour la mise en route des essais écotoxicologiques sur place à Port-au-Prince et l'autre partie destinée à la réalisation de bioessais en France a été congelée immédiatement. En fonction des bioessais retenus, il a fallu, conformément aux protocoles imposés par les normes correspondantes, travailler soit sur des échantillons bruts décantés soit sur des échantillons filtrés (0,45 µm ou 1,2 µm). En vue de faciliter la filtration de l'échantillon brut, il a été centrifugé (9300 tour/mn) pendant 20 mn puis filtré au moyen du filtre de porosité adéquate. Les informations relatives à la caractérisation écotoxicologique des échantillons de RUTP

prélevés sont présentées dans le paragraphe III.5 (page 170) pour l'échantillon prélevé en France et dans le paragraphe IV.5 (page 185) pour les échantillons prélevés en Haïti.

II.2.12. Campagne d'analyses

Analyses physico-chimiques :

Les analyses physico-chimiques sont destinées à récolter les informations nous permettant d'apprécier les caractéristiques spécifiques de l'échantillon prélevé. Elles concernent à la fois les mesures *in situ* et les analyses réalisées en laboratoire. Ces mesures portent tant sur l'eau que sur les matières en suspension. Ces deux mesures se complètent car certains polluants sont adsorbés (fixés) sur les matières en suspension alors que d'autres sont en solution dans l'eau [AERMC, 2002]. Elles nous donnent une indication sur le niveau de pollution de l'échantillon au moment du prélèvement.

Analyse granulométrique :

Les analyses granulométriques sont destinées à apporter des éléments d'information permettant d'apprécier la constitution de l'échantillon concerné sur la base de la répartition de la taille de ses éléments constitutifs. La granulométrie de l'échantillon nous renseigne, entre autre, sur la surface d'échange des particules qui est en étroite relation avec le transfert des polluants adsorbés sur ces particules.

Ces analyses peuvent être réalisées par tamisage uniquement ou en associant l'analyse granulométrique par tamisage (pour les éléments légèrement grossiers ou ≥ 1,6 mm) avec la méthode par diffraction laser (fraction < 1,6 mm), selon les capacités analytiques disponibles. Ces analyses pourront être réalisées sur la totalité de l'échantillon (eau et particules en suspension) ou uniquement sur la fraction particulaire. Les résultats de cette répartition seront présentés sous la forme de classes granulométriques. La répartition pourra être effectuée sur la base du diamètre des grains (D) en utilisant comme référence les classes définies par Wentworth [1922] et présentées dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Classes granulométriques [Wentworth, 1922]

Taille	*Dénomination*
256 mm < D	blocs
64 mm < D < 256 mm	cailloux
2 mm < D < 64 mm	graviers
63 µm < D < 2 mm	sables
4 µm < D < 63 µm	silts
D < 4 µm	argiles

Dans le cadre cette thèse, nous avons effectué les analyses granulométriques sur les particules de l'échantillon de RUTP. Elles ont été réalisées par diffraction laser. Les informations relatives à la démarche adoptée sont présentées dans les sections destinées à la caractérisation des échantillons de RUTP prélevés.

Essais écotoxicologiques en laboratoire :

En référence au modèle conceptuel proposé, une partie de cette proposition méthodologique implique la caractérisation écotoxicologique de la matrice polluante par la mise en œuvre d'expérimentations en laboratoire. Les informations générales relatives à cette phase de caractérisation des effets sont détaillées dans le paragraphe II.2.313, page 148.

II.2.2. Caractérisation de l'exposition

Cette étape décrit deux grands thèmes de l'étude permettant de caractériser l'exposition : la caractérisation physico-chimique de l'échantillon et la démarche adoptée pour aboutir aux valeurs de PEC (Predicted Environmental Concentration) pour le scénario étudié. Nous traiterons des généralités relatives à cette démarche en ayant soin d'intégrer les particularités spécifiques à chacun des *scenarii* étudiés (français et haïtien) au moment de l'application de cette méthodologie aux deux cas de figure.

II.2.21. Analyses physico-chimiques

Dans le cadre de cette étude, nous avons défini deux options pour parvenir à la caratérisation physico-chimique des échantillons prélevés : l'utilisation des services d'un laboratoire accrédité et la réalisation d'analyses en interne. Ce choix repose sur les trois critères suivants :

- la volonté de procéder à une caractérisation physico-chimique détaillée de l'échantillon prélevé, surtout en ce qui concerne l'échantillon prélevé en France. En ce qui concerne les échantillons prélevés en Haïti, ces derniers ont été expédiés en France pour être analysés. La capacité analytique des laboratoires d'Haïti (l'UniQ, la Faculté des Sciences ou la Faculté d'Agronomie de l'Université d'Etat d'Haïti) étant très restreinte, il n'était, par conséquent, pas possible de procéder à cette caractérisation sur place. Face à certaines contraintes techniques, surtout en ce qui concerne les volumes d'échantillons disponibles en France pour réaliser cette caractérisation, il a fallu établir une liste restreinte de paramètres à doser. Les informations concernant les paramètres retenus sont présentés dans les sections consacrées à la caractérisation des échantillons de RUTP ;
- la volonté de doser les polluants métalliques présents dans ces échantillons, tant sous la forme dissoute que sous la forme particulaire ;
- les limites de la capacité analytique respective des différents laboratoires d'analyse auxquels on s'est adressé dans le cadre de cette étude : les Laboratoires Wessling, le LSE de l'ENTPE et le Laboratoire de Génie Civil et d'Ingénierie Environnementale (LGCIE) de l'INSA de Lyon. Le

choix des paramètres à doser ainsi que la fraction concernée (dissoute ou particulaire) nous a donc conduit à solliciter les services de ces 3 laboratoires.

Les données bibliographiques relatives aux grandes familles de polluants généralement présents dans les RUTP ont servi de référence pour sélectionner les paramètres dosés. Dans cette liste de paramètres, on retrouve : des paramètres globaux (pH, T (°C), MES, DCO, DBO_5, …), des micropolluants organiques (HAP, PCB, …), des micropolluants minéraux (Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, Zn, …), l'azote ammoniacal (NH_4^+), etc. La nature des principales activités humaines rencontrées au sein du bassin-versant étudié a également contribué au choix des paramètres figurant dans cette liste.

La préparation et la conservation des échantillons ont été conformes au protocole associé aux différents groupes de paramètres dosés. Les informations relatives au traitement des différents échantillons de RUTP (France ou Haïti), aux paramètres retenus et aux laboratoires qui sont intervenus pour caractériser ces échantillons, sont présentées plus en détails dans les sections dédiées à la caractérisation de ces derniers.

II.2.22. Approche retenue pour l'estimation des PEC

II.2.221. Polluants traceurs de risque

Sur la base des résultats de la caractérisation physico-chimique de l'échantillon de RUTP, il est procédé à la sélection des polluants traceurs de risque qui sont utilisés dans la suite du processus d'EDREcotox. Les traceurs de risque sélectionnés n'appartiennent pas aux groupes suivants :

- les polluants dont la concentration n'a pas été détectée ou les polluants pour lesquels le dosage indique une concentration inférieure à la limite de quantification des techniques analytiques utilisées ;
- les polluants qui sont dosés sous la forme d'un indice ou d'un groupe. Ce qui est le cas, par exemple, pour certains paramètres globaux tels : le pH, la conductivité, le potentiel redox, la les MES, le COD, la DCO, la DBO_5, … ;
- des polluants non dosés dans l'échantillon de RUTP prélevé.

A cette liste de critère de sélection s'ajoute également un critère se référant à l'état des connaissances sur les effets écotoxicologiques des traceurs de risque potentiels. Ainsi, les polluants pour lesquels les données d'écotoxicité existantes ne permettent pas d'estimer des valeurs de $PNEC_{aquatique}$ ne seront pas retenus dans la liste finale des traceurs de risque.

II.2.222. Estimation des valeurs de PEC

Notre démarche d'EDREcotox repose sur une estimation théorique des valeurs de PEC pour les traceurs de risque retenus. Cette estimation est qualifiée de théorique du fait qu'elle ne tient pas compte de certains facteurs dans l'estimation des concentrations auxquelles les organismes du milieu récepteur sont exposés. En effet, la première version de la démarche proposée ici ne prend

pas en compte certains phénomènes importants tels que : la biodisponibilité, la bioaccumulation, la spéciation, les phénomènes de transformation, … des traceurs de risque retenus.

II.2.2.2.2.1. Organismes de la colonne d'eau

Nous avons retenu la méthode de calcul des dilutions pour estimer les valeurs de PEC_{Eau} pour les organismes de la colonne d'eau. Cette méthode simple permet d'apprécier les concentrations théoriques auxquelles ces organismes sont exposés.

Le calcul des dilutions requiert une bonne connaissance des débits en jeu dans le cadre du scénario d'étude. La confrontation de ces débits permet de calculer le pourcentage volumique de l'échantillon de RUTP dans le cours d'eau. L'estimation de ce pourcentage volumique nécessite la connaissance des débits suivants :

- Débit des RUTP déversés au niveau de l'exutoire considéré ($\mathbf{Q_{RUTP}}$) ;
- Débit de la rivière considérée ($\mathbf{Q_{Rivière}}$).

Le pourcentage volumique déterminé est ensuite appliqué à la concentration dosée pour chacun des traceurs de risque retenus pour l'échantillon de RUTP étudié.

Dans le cadre de cette étude, l'estimation des valeurs de PEC_{Eau} est notamment faite pour la situation qualifiée de « la plus défavorable » pour les organismes de la colonne d'eau de la rivière, c'est-à-dire pour la situation qui correspond au ratio « Q_{RUTP} / $Q_{Rivière}$ » le plus élevé.

II.2.2.2.2.2. Organismes du sédiment

En ce qui concerne les organismes du sédiment, vivant essentiellement dans les zones benthique et hyporhéique de la rivière, il a également été défini une situation qualifiée de « plus défavorable » pour ces organismes. Elle se réfère à des zones d'accumulation des particules des RUTP. En effet, sur la base de travaux et d'observations précédentes effectués notamment par le CEMAGREF de Lyon, il est possible d'émettre l'hypothèse de l'existence d'une zone préférentielle régit par des conditions adéquates (pente longitudinale douce, débit relativement faible, vitesse d'écoulement laminaire, …) qui favorisent la décantation des particules contenues dans les RUTP. Dès lors, les organismes interstitiels seraient exposés à une part importante de la pollution particulaire apportée par les RUTP.

L'hypothèse de l'existence de zones préférentielles d'accumulation des particules du RUTP au niveau du cours d'eau traduit le fait que les organismes du sédiment peuvent être exposés à 100% des particules contenues dans les RUTP. De ce fait, les valeurs de $PEC_{Séd}$ correspondent aux concentrations dosées dans les particules pour les traceurs de risque retenus.

II.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques

II.2.31. Approches retenues

Les quatre approches possibles pour la caractérisation des effets écotoxicologiques ont été présentées dans la synthèse bibliographique de ce document (voir paragraphe II.3.22, page 77).

Dans le cadre de cette étude nous proposons de réaliser cette étape de caractérisation des effets pour un échantillon de RUTP au moyen de trois des quatres approches présentées : l'approche « substances seules », l'approche « substances avec effets combinés » et l'approche « matrice » au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques.

II.2.311. Approche « substances seules »

Les principes de cette approche ont été présentés au paragraphe II.3.221 de la revue bibliographique. Elle est conduite tant pour le compartiment « eau » que pour le compartiment « sédiment » de la rivière. Une fois les traceurs de risque sélectionnés, l'essentiel de cette approche consiste à rechercher dans les Bases de Données Internationales (BDI) les valeurs de $PNEC_{Eau}$ (Predicted Non Effect Concentration) et de $PNEC_{Sédiment}$ disponibles pour les polluants traceurs retenus.

II.2.312. Approche « substances avec effets combinés »

Les principes de l'approche « substances avec effets combinés » ont été présentés au paragraphe II.3.222 de la revue bibliographique. Cette approche qui est une optimisation de l'approche « substances seules » est mise en œuvre pour les organismes de la colonne d'eau uniquement. En effet, les BDI ne disposent pas de données sur les effets combinés des traceurs de risques retenus pour des organismes du sédiment en milieu d'eau douce. De plus, la méconnaissance des types d'effets combinés qui peuvent être mis en évidence (antagonisme, additivité, synergie) ne permettent pas de déterminer des valeurs de PNEC pour ce cas de figure.

Au moment de l'application de cette méthodologie pour le compartiment « colonne d'eau » de la rivière, on prendra en compte les résultats apportés par la première section (Etude des effets combinés) de cette thèse. Ces résultats découlant de l'étude des effets combinés réalisée vis-à-vis de la daphnie et de l'algue Ps ainsi que les recommandations de l'INERIS [2003a] permettront d'orienter notre choix pour l'application de la méthodologie proposée, sur la base de cette approche.

II.2.313. Approche « matrice » au moyen d'essais écotoxicologiques

Les essais écotoxicologiques sont réalisés en vue d'évaluer les effets de l'échantillon concerné sur des organismes « représentatifs » de l'écosystème à protéger. Les principes de cette approche ont été présentés au paragraphe II.3.223 de la revue bibliographique.

Notre étude porte essentiellement sur un écosystème aquatique dulçaquicole. Par conséquent, des organismes représentatifs de ce type de milieu ont été sélectionnés en vue de mettre en évidence les effets écotoxiques de l'échantillon prélevé vis-à-vis de ces derniers.

Dans le cadre de ce travail, il a été choisi de caractériser les effets écotoxicologiques au moyen d'essais mono-spécifiques réalisés en laboratoire. Les organismes aquatiques utilisés proviennent d'élevages en laboratoire ou de sporocystes achetés dans le commerce.

Une batterie de bioessais mono-spécifiques a été constituée et proposée pour la caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon prélevé. Cette batterie de bioessais est constituée d'essais normalisés et d'essais non-normalisés. Les bioessais non-normalisés sélectionnés ont été choisis en raison de leur capacité à mettre en évidence des effets pour des fractions spécifiques de la matrice polluante étudiée. La caractérisation des effets est réalisée, en parallèle, sur la « fraction eau » et sur la « fraction particulaire » de l'échantillon concerné.

Certains bioessais, en particulier ceux avec des organismes lyophilisés, ont été sélectionnés en raison de leur simplicité de mise en œuvre, leur rapidité mais également par souci de disposer d'une batterie minimale de bioessais qui peut être mise en œuvre dans un Pays en voie de Développement (PED) comme Haïti.

Tel que spécifié dans la revue bibliographique, il y a des situations qui nécessite une adaptation de protocole. Dans le cadre de cette étude, nous avons recouru à cette option pour répondre à certaines interrogations ou du moins pour contourner certains problèmes spécifiques rencontrés. Ainsi, quelques protocoles existants ont été adaptés et d'autres proposés en vue d'atteindre les objectifs fixés. Les protocoles concernés ainsi que les adaptations proposés sont présentés dans les paragraphes spécifiquement concernés par ces modifications.

Les normes et protocoles utilisés pour les différents bioessais retenus sont présentés dans les paragraphes II.2.32 (page 138) et II.2.33 (page 148).

II.2.32. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en oeuvre

II.2.321. Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (Dm)

II.2.3.2.1.1. Présentation de l'organisme test

L'organisme test *Daphnia magna Strauss* (Dm) a été présenté au paragraphe I.2.1 de la partie « Matériels et Méthodes ».

II.2.3.2.1.2. Protocole de réalisation de l'essai

Ce bioessai est réalisé d'après la norme internationale NF EN ISO 6341 (T 90-301) [1996] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A). Le protocole utilisé est le même que celui présenté au paragraphe I.3.31 (page 116).

Les périodes d'essai sont de 24h et de 48h. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration initiale qui immobilise, sur la période d'essai, 20% des Dm mises en expérimentation).

Les paramètres permettant de valider les résultats sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme [NF EN ISO 6341 (T 90-301), 1996].

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer les valeurs de CE_{20} (CE_{20}-24h et CE_{20}-48h) pour l'échantillon testé.

II.2.322. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf)

II.2.3.2.2.1. Présentation de l'organisme test

Anatomie - Biologie - Ecologie :

L'organisme aquatique *Vibrio fischeri*, anciennement dénommé *Photobacterium phosphoreum*, est un décomposeur. C'est une bactérie marine qui émet naturellement de la lumière, phénomène dénommé « bioluminescence » ou plus simplement « luminescence ». Cette bactérie est une espèce ubiquiste des océans, non pathogène pour l'homme et les mammifères [Santiago *et al.*, 2002].

La luminescence de cette bactérie se traduit par l'émission d'une lumière de couleur bleue-verte qui est liée au cycle énergétique de la cellule. Cette luminescence est produite au cours d'un enchaînement de processus métaboliques de la glycolyse et de la respiration cellulaire, mettant en jeu l'enzyme luciférase et des coenzymes d'oxydoréduction [Ferard *et al.*, 1983] ; [Santiago *et al.*, 2002]. L'inhibition de la luminescence peut donc être interprétée comme une perturbation de ces processus métaboliques.

Le fait que cette bactérie ne soit pas représentative, d'un point de vue écologique, des espèces rencontrées dans les eaux douces n'empêche nullement qu'elle soit largement utilisée en écotoxicologie pour la mise en évidence des effets toxiques d'un échantillon. En effet, cet organisme est représentatif des bactéries de l'environnement et réagit aux toxiques de la même façon que le feraient des bactéries d'eau douce. Le test d'inhibition de la luminescence de *V. fischeri* est connu pour être simple, fiable, rapide et de plus il est normalisé.

Organisme utilisé :

L'organisme utilisé est une souche de bactéries luminescentes appartenant à l'espèce *Vibrio fischeri* NRRL B-11177, disponible dans le commerce sous la forme lyophilisée. La souche est conservée au congélateur entre - 18 °C et - 20 °C et utilisée avant la date de péremption indiquée. Elle utilisée après sa remise en suspension au moyen d'un milieu de reconstitution salin, selon les directives de la norme. Les bactéries commencent à émettre de la lumière immédiatement après leur réhydratation et sont prêtes à être utilisées pour l'essai [NF EN ISO 11348-3, 1999].

II.2.3.2.2.2. Protocole de réalisation de l'essai

Cet essai est un test de toxicité aiguë qui est réalisé d'après la norme NF EN ISO 11348-3 [1999]. La rapidité de ce test en fait un outil intéressant dans les contextes de dépistage ainsi que pour les études comparatives. Le protocole de cette norme permet d'évaluer l'inhibition de la luminescence d'une suspension de *V. fischeri* (Vf), par rapport à un témoin, suite à la mise en contact de l'organisme avec une gamme de dilutions d'un échantillon aqueux. On procède à une lecture initiale de la luminescence des bactéries avant la mise en contact avec l'échantillon puis à deux autres lectures après les périodes d'incubation de 15 et de 30 minutes qui suivent la mise en contact. Une fiche récapitulative de la norme est présentée en annexe (voir Annexe A).

Le bioessai avec les bactéries *V. fischeri*, commercialisé au début des années 1980 sous le nom de Microtox® (développé par Azur Environment) puis de Lumistox® (développé par le Dr Lange), a connu un succès rapide pour la mise en évidence d'effets toxiques d'effluents de stations d'épuration domestiques et industrielles [Santiago *et al.*, 2002]. L'appareil utilisé dans le cadre de notre étude est le luminomètre Microtox® M500.

La **Figure 18** présente les grandes étapes du protocole expérimental pour la mise en œuvre de cet essai.

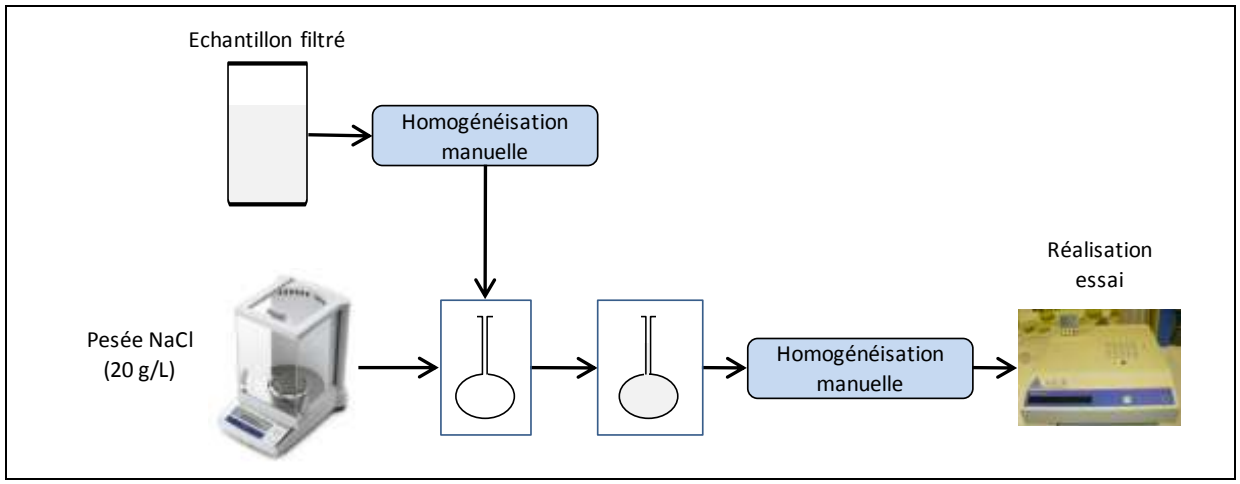


Figure 18 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Phase Liquide sur la fraction « eau » d'un échantillon de RUTP**

La norme recommande de réaliser l'essai sur le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon à tester, dans la mesure où ce dernier est suceptible de contenir des organismes ou particules pouvant perturber la réalisation de l'essai. Le milieu de dilution utilisé est de l'eau distillée, salée à 20 g/L. La gamme de dilutions est, généralement, constituée de 8 dilutions du filtrat à tester. Pour le témoin (deux tubes), on utilise le milieu de dilution. Cette gamme est réalisée directement dans les tubes à essais, qui sont adaptés au luminomètre utilisé.

Les données obtenues à la suite de la réalisation de l'essai sont des intensités lumineuses, mesurées en unités relatives, auxquelles on applique le facteur de correction suivant (Equation 4) :

$$f_{kt} = I_{kt} / I_0 \qquad \textbf{Equation 4}$$

où : f_{kt} = facteur de correction pour un temps de contact (t) de 30 minutes

I_{kt} = luminescence du témoin après un temps de contact(t) de 30 minutes

I_0 = luminescence initiale du témoin

Suite à ce calcul, on détermine la valeur moyenne de ce facteur pour le témoin. L'application de ce facteur permet de corriger les valeurs initiales de luminescence (I_{0i}) de chaque dilution de la gamme soumise à l'essai en vue de prendre en compte la décroissance naturelle de la luminescence. On aboutit ainsi à des valeurs corrigées pour les (I_{0i}) en procédant de la manière suivante (Equation 5) :

$$I_{ct} = I_{0i} \; x \; \overline{f_{kt}} \qquad \textbf{Equation 5}$$

où : I_{ct} = luminescence corrigée pour la dilution « i » de la gamme testée après un temps de contact (t) de 30 minutes

I_{0i} = luminescence initiale de la dilution « i » de la gamme testée

$\overline{f_{kt}}$ = moyenne des valeurs de f_{kt} pour le témoin

Les valeurs corrigées ainsi obtenues vont nous permettre de calculer l'inhibition (H_t), exprimée en pourcentage, pour chaque dilution de l'échantillon soumis à l'essai en procédant au calcul suivant (Equation 6) :

$$H_{t\,(\%)} = \frac{I_{ct} - I_{it}}{I_{ct}} \; x \; 100 \qquad \textbf{Equation 6}$$

où : H_t = inhibition de la dilution de l'échantillon testé après un temps de contact de 30 min

I_{ct} = luminescence corrigée pour la dilution « i » testée après un temps de contact (t) de 30 minutes

I_{it} = luminescence pour la dilution « i » de l'échantillon après un temps de contact (t) de 30 minutes

Les paramètres permettant de valider les résultats sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration efficace qui inhibe de 20% la luminescence de la suspension de bactéries mise en expérimentation durant la période d'essai).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CE_{20}-30 min pour l'échantillon testé.

II.2.323. Inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps)

II.2.3.2.3.1. Présentation de l'organisme test

L'organisme test *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) a été présenté au paragraphe I.2.2 de la partie « Matériels et Méthodes ».

II.2.3.2.3.2. Protocole de réalisation de l'essai

Ce bioessai est réalisé suivant les prescriptions de la norme française NF T 90-375 [1998] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A). Un facteur purement technique et

opérationnel nous a conduit à travailler avec un protocole légèrement modifié par rapport à celui présenté au paragraphe I.3.32 (page 117). Deux points différencient ces deux protocoles ; il s'agit : (i) du type de récipient utilisé ; (ii) du mode d'incubation. La **Figure 19** ci-dessous présente les principales étapes du protocole expérimental pour réaliser le test algue sur la fraction eau d'un échantillon de RUTP.

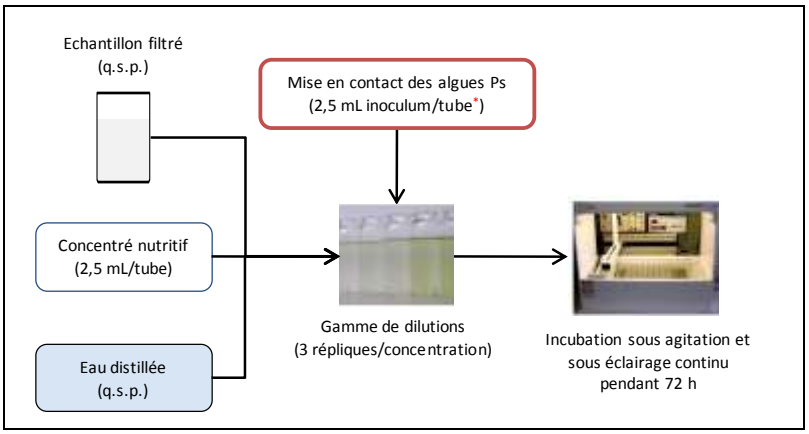


Figure 19 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation du test algue Ps sur la fraction « eau » d'un échantillon de RUTP**

(* : Pas d'inoculum dans les témoins négatifs)

Ce protocole et celui présenté au paragraphe I.3.32 sont pratiquement équivalents dans la mesure où le principe de base reste le même. L'option d'utiliser ce 2ème protocole (**Figure 19**) se base sur le fait que le laboratoire d'écotoxicologie (POLDEN) où est réalisé ce bioessai est équipé d'un automate Algentest® destiné à la réalisation de cet essai.

Les équations utilisées pour calculer les effets inhibiteurs de l'échantillon sur la base de la gamme de dilutions testée sont les mêmes que celles présentées au paragraphe I.3.32.

Les paramètres permettant de valider les résultats sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations de la norme NF T 90-375 [1998]. La période d'essai est de 72h. Le comptage cellulaire est réalisé en début et en fin d'essai. Les résultats seront présentés sous la forme de CI_{20} (concentration qui inhibe de 20% la croissance de la population d'algues Ps mise en expérimentation durant la période d'essai).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CI_{20}-72h pour l'échantillon testé.

II.2.324. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* (Bc) en 48 h

II.2.3.2.4.1. Présentation de l'organisme test

Anatomie - Biologie - Ecologie :

Les rotifères sont des métazoaires très communs dans le plancton des eaux douces et ils ont une grande importance en aquaculture car ils servent d'aliment aux alevins dès résorption de la vésicule vitelline [Fulks et Main, 1991]. Ce sont des organismes de 0,1 à 1 mm, qui appartiennent au groupe des vers. Ils possèdent dans la région apicale un appareil rotateur, formé de couronnes ciliaires. Ces couronnes constituent le moyen de locomotion des rotifères et contribuent à leur alimentation par la capture des proies. La plupart des rotifères se nourrissent en filtrant leur milieu. Quand les cils battent, on a l'impression d'une roue qui tourne, d'où leur nom de rotifère en rapport à ce mouvement rotatif. Leur corps est formé de trois régions : la tête, couronnée par l'appareil rotateur ; le tronc généralement recouvert par une cuticule plus ou moins épaisse et transparente, la lorica ; et le pied plus ou moins développé et rétractile, terminé par deux cirres qui forment une pince. Une glande dont la sécrétion permet la fixation y aboutit. C'est la forme de la lorica qui permet d'identifier les rotifères ; les principaux genres sont *Brachionus* et *Keratella*, mais de nombreuses autres espèces sont généralement observées (*Epiphanes*, *Philodina*, etc.) [DEGREMONT, 1989] ; [Clément, 1994] ; [Dabbadie, 2008].

L'espèce *Brachionus calyciflorus*, de forme cylindrique et de taille de l'ordre du millimètre, vit dans la colonne d'eau et peut supporter des températures comprises entre 15 et 31°C et son pH optimal est compris entre 6 et 8 à 25 °C [Arimoro, 2006].

Le cycle biologique des rotifères fait généralement appel à la parthénogenèse. Les femelles pondent des oeufs à développement rapide et qui donnent naissance à des filles en tout point semblables à leur mère. Les populations peuvent atteindre des densités considérables, de l'ordre de 10 000 individus/L. Leur temps de génération est de 2-3 j à 20 °C, de sorte qu'ils colonisent les premiers un plan d'eau. La présence de mâles est rare. On identifie ces derniers à leur taille puisqu'ils sont plus petits que les femelles. La reproduction sexuée ne survient que lorsque les conditions du milieu se dégradent. *B. calyciflorus* présente des capacités importantes de vie ralentie par enkystement pouvant résister à 150 °C pendant 35 minutes et à -272 °C pendant plusieurs heures [Boillot, 2008] ; [Dabbadie, 2008].

B. calyciflorus appartient au compartiment des décomposeurs et des détritivores. Au sein des écosystèmes, sa fonction est double. Il est un prédateur pour des proies telles que les microalgues et les bactéries et il est également une proie pour des poissons et quelques prédateurs invertébrés. De manière générale, on reconnaît aux rotifères une sensibilité aux toxiques et aux variations de charges en matière organique des eaux usées. Ils peuvent se développer dans les boues activées des STEP [Boillot, 2008].

Disponibilité de l'organisme au laboratoire :

Pour disposer de l'organisme *B. calyciflorus* en laboratoire, on peut soit entretenir des élevages soit l'acheter sous forme de sporocystes vendus dans le commerce dans des kits dénommés « Rotoxkit™ F ». Ce Toxkit est développé et commercialisé par la société belge MicroBioTests Inc.

II.2.3.2.4.2. Protocole de réalisation de l'essai

Le bioessai réalisé en 48h avec l'organisme *B. calyciflorus* est un test de toxicité chronique qui peut être mis en œuvre selon les prescriptions du projet de norme PR NF ISO 20666 (T 90-334) [2007] ou selon les indications du manuel standard du « Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater » (Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus*) [MicroBioTests Inc., 2006]. La commercialisation de cet essai sous forme de Toxkit ainsi que la sensibilité de l'organisme et sa reproduction rapide figurent parmi les critères qui portent à choisir cet essai pour étudier les effets toxiques d'un échantillon.

Cet essai permet de déterminer l'inhibition de la croissance d'une population de *B. calyciflorus*, par rapport à un témoin, suite à la mise en contact des organismes pendant 48h avec une gamme de dilutions d'un échantillon aqueux. Le protocole retenu est celui du « Rotoxkit™ F » [MicroBioTests Inc., 2006] dont une fiche récapitulative est présentée dans les annexes de ce document (voir Annexe A).

Une première appréciation des données brutes obtenues passe par le calcul de l'effet inhibiteur de l'échantillon testé sur la croissance de la population de rotifères mise en expérimentation, par rapport au témoin. Pour chaque dilution de la gamme testée on procède au calcul suivant (équation 7).

$$IC_{i\,(\%)} = \frac{\overline{NC_T} - \overline{NC_i}}{\overline{NC_T}} \times 100 \qquad \textbf{Equation 7}$$

où : IC_i = pourcentage d'inhibition de la croissance de la population

$\overline{NC_T}$ = nombre moyen d'organimes vivants dans la solution témoin

$\overline{NC_i}$ = nombre moyen d'organismes vivants dans la concentration « i » de la solution d'essai

Les paramètres permettant de valider l'essai sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations du protocle d'essai. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration efficace qui inhibe de 20% la croissance de la population de rotifères Bc mise en expérimentation durant la période d'essai).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CE_{20}-48h pour l'échantillon testé.

II.2.325. Inhibition de la croissance de la population de *Ceriodaphnia dubia* (Cdu) en 7 jours

II.2.3.2.5.1. Présentation de l'organisme test

Anatomie - Biologie - Ecologie :

L'organisme aquatique *Ceriodaphnia dubia* est un crustacé cladocère dulçaquicole de la famille des *Daphnideae*. Il est surtout présent dans les eaux calmes et tempérées de l'Hémisphère Nord. Il est de plus petite taille (entre 0,6 et 1,4 mm) que *D. magna* et présente une morphologie différente. La petite taille de *C. dubia* lui permet d'utiliser pour son alimentation, en plus des microalgues de taille réduite, des éléments appartenant au microplancton bactérien. Une étude réalisée par Abrantes et Gonçalves [2003] sur les dynamiques du cladocère *Ceriodaphnia pulchella* en laboratoire souligne que cet organisme peut se développer dans des eaux de lac prélevées et débarrassées de leur phytoplancton [Cauzzi, 2007].

La reproduction de *C. dubia* suit le même schéma que celle de *D. magna*. Elle est généralement parthénogénétique mais peut être sexuée et conduire à la production d'embryons dormant si les conditions environnementales deviennent défavorables. La production de jeunes est quasi continue ; ces derniers sont expulsés de la mère après une période d'incubation de 24 à 36 heures. Tout comme les daphnies, les ceriodaphnies constituent également une source d'alimentation pour les poissons [Garric et al., 1993] ; [Cauzzi, 2007] ; [Boillot, 2008].

Elevage :

Des élevages de *C. dubia* peuvent être maintenus en laboratoire suivant les mêmes conditions recommandées pour des élevages de *D. magna*. Cependant, l'entretien de ces élevages est plus délicat. En effet, la taille réduite de C. dubia par rapport à D. magna nécessite légèrement plus d'attention au moment du tri pour séparer les jeunes des mères. L'utilisation d'une loupe binoculaire peut se révéler un atout pour optimiser l'exercice du tri.

II.2.3.2.5.2. Protocole de réalisation de l'essai

Cet essai permet de déterminer la toxicité chronique vis-à-vis de *Ceriodaphnia dubia* (Cdu) en se basant sur l'inhibition de la croissance de la population en 7 jours. Il est réalisé suivant les prescriptions de la norme NF T 90-376 [2000] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A).

La brièveté de cet essai de toxicité chronique (par rapport à l'essai *D. magna* 21j, par exemple), les faibles volumes utilisés et le renouvellement périodique des solutions d'essai constituent quelques-uns des atouts qui portent à le retenir dans une batterie de bioessais [NF T 90-376, 2000] ; [INERIS, 2003c]. Ces caractéristiques confortent le choix de cet essai, d'une durée de 7 jours, pour mettre en évidence la toxicité chronique d'un échantillon.

Dans le cadre de nos expérimentations, nous avons apporté deux modifications au protocole expérimental de la norme :

- le volume de solution d'essai utilisé : nous avons travaillé dans 25 mL au lieu des 50 mL indiqué dans la norme ;
- le milieu de dilution utilisé : l'eau d'Evian qui sert de milieu d'élevage en laboratoire pour les ceriodaphnies a été utilisée comme milieu de diliution pour l'essai.

L'INERIS [2003c] relate dans ce rapport technique les expérimentations qui ont été réalisées en vue de vérifier dans quelle mesure certaines modifications des conditions expérimentales pouvaient affecter : les conditions de validité de l'essai, le taux de reproduction de l'organisme test ainsi que sa sensibilité à la substance de référence. Les deux paramètres adaptés dans le cadre de notre expérimentation (volume d'essai et l'utilisation d'une eau minérale naturelle) faisaient partie des points concernés. Ce rapport souligne que même en adaptant ces paramètres, il était également possible de valider cet essai.

Deux critères d'effets peuvent être suivis en parallèle au cours de la période d'expérimentation : la croissance de la population mise en expérimentation ainsi que la reproduction des mères. Ainsi, les données expérimentales recueillies permettront d'évaluer les effets inhibiteurs de l'échantillon testé en termes de croissance de la population (IC) de même que les effets en rapport à la reproduction (IR) de l'organisme, par rapport au témoin.

L'inhibition de la croissance (IC) de la population de *C. dubia* est déterminée en utilisant l'équation 7 qui a été présentée au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144) pour déterminer l'inhibition de la croissance de la population de rotifères. En ce qui concerne l'inhibition de la reproduction (IR), elle ne prend en compte que les concentrations pour lesquelles la mère est vivante en fin d'essai. Elle est déterminée au moyen de l'équation 8.

$$IR_{i\,(\%)} = \frac{\overline{NR_T} - \overline{NR_i}}{\overline{NR_T}} \times 100 \qquad \textbf{Equation 8}$$

où : IR_i = pourcentage d'inhibition de la reproduction croissance de la population

$\overline{NR_T}$ = nombre moyen d'organimes vivants dans la solution témoin où la mère est vivante en fin d'essai

$\overline{NR_i}$ = nombre moyen d'organismes vivants dans la concentration « i » de la solution d'essai où la mère est vivante en fin d'essai

Les paramètres permettant de valider l'essai sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations du protocle d'essai. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration efficace qui inhibe de 20% le critère d'effet concerné - croissance de la population/reproduction - durant la période d'expérimentation).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CE_{20} pour l'échantillon testé.

II.2.326. Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *Daphnia magna Strauss* (Dm) en 21 jours

II.2.3.2.6.1. Présentation de l'organisme test

L'organisme test *Daphnia magna Strauss* (Dm) a été présenté au paragraphe I.2.1 (page 109).

II.2.3.2.6.2. Protocole de réalisation de l'essai

L'essai *Daphnia magna* 21 jours est un essai de toxicité sublétale à long terme vis-à-vis de l'organisme test. Il permet de déterminer l'inhibition de la croissance de la population et de la reproduction de *Daphnia magna* (Dm) sur une période de 21 jours. Il peut être réalisé suivant la méthode ISO [ISO/FDIS 10706, 1999] ou la ligne directrice OCDE 211 (essai de reproduction *Daphnia magna* 21 jours) [OCDE, 1998].

Dans le cadre de cette étude, le protocole d'essai retenu est celui décrit dans la norme internationale ISO/FDIS 10706 [1999] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A).

Le volume de travail qui a été retenu dans le cadre de nos expérimentations est de 50 mL ; la norme préconise 50 mL ou 100 mL. Cependant, nous avons apporté une modification au protocole expérimental de la norme. Elle concerne le milieu de dilution utilisé. Nous avons choisi de conserver le milieu qui sert de milieu d'élevage en laboratoire pour les daphnies. Ce milieu est constitué d'un mélange (v/v) de deux eaux minérales naturelles : Evian (20%) et Volvic (80%).

Tout comme pour l'essai *C. dubia* 7j, la croissance de la population mise en expérimentation ainsi que la reproduction des mères peuvent être suivis en parallèle au cours de la période d'essai. Ainsi, les données expérimentales recueillies permettront d'évaluer les effets inhibiteurs de l'échantillon testé en termes de croissance de la population (IC) de même que les effets en rapport à la reproduction (IR) de l'organisme, par rapport au témoin.

L'inhibition de la croissance (IC) de la population de *D. magna* 21j est déterminée en utilisant l'équation 7 qui a été présentée au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144) pour déterminer l'inhibition de la croissance de la population de rotifères. En ce qui concerne l'inhibition de la reproduction (IR), elle est déterminée en utilisant l'équation 8 qui a été présentée au paragraphe II.2.3.2.5.2 (page 145) pour déterminer l'inhibition de la reproduction de *C. dubia*.

Les paramètres permettant de valider l'essai sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations du protocle d'essai. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration efficace qui inhibe de 20% le critère d'effet concerné - croissance de la population/reproduction - durant la période d'expérimentation).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outil adapté (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CE_{20} pour l'échantillon testé.

II.2.33. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

II.2.331. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0)

II.2.3.3.1.1. Présentation de l'organisme test

L'organisme test *Vibrio fischeri* (Vf) a été présenté au paragraphe II.2.3.2.2.1 (page 139).

II.2.3.3.1.2. Protocole de réalisation de l'essai

Cet essai est un test de toxicité aiguë qui permet de mettre en évidence les effets d'une matrice solide de type sédiment vis-à-vis de l'organisme *V. fischeri* (Vf). La mise en œuvre de ce bioessai permet de détecter la toxicité qui est liée à la fraction insoluble de l'échantillon qui constitue la phase particulaire. Le matériel utilisé pour la réalisation de cet essai (luminomètre, tubes) ainsi que le réactif biologique (souche de *V. fischeri*) sont les mêmes que ceux utilisés pour l'essai sur matrice liquide. Le protocole utilisé pour la réalisation de cet essai est celui développé par AZUR Environmental [1998a], puisque cet essai n'est pas normalisé. Une fiche récapitulative de ce protocole est présentée dans les annexes de ce document (voir Annexe A).

Tout comme pour l'essai sur « phase liquide », l'effet inhibiteur sur la luminescence de la suspension de *V. fischeri* est évalué par rapport à un témoin, suite à la mise en contact de l'organisme avec une gamme de dilutions de la « phase solide » maintenue en suspension dans le milieu de dilution (eau salée à 20 g/L). On procède à une lecture initiale de la luminescence des bactéries avant la mise en contact avec l'échantillon puis à une autre lecture après une période d'incubation de 20 minutes qui suit la mise en contact.

La **Figure 20** présente les grandes étapes du protocole expérimental pour la mise en œuvre de cet essai. Nous tenons à signaler une adaptation réalisée en ce qui concerne la proportion initiale « échantillon/liquide » mise en expérimentation. Dans le protocole du fabriquant, la teneur en eau initiale de l'échantillon n'est pas prise en compte. Par conséquent, il est difficile de comparer les résultats de toxicité de différents échantillons. De plus, dans la littérature, on retrouve des résultats qui sont exprimés en matière sèche (MS).

En vue d'intégrer ce facteur, le laboratoire POLDEN a opté de travailler avec un ratio initial « échantillon/liquide » de « l'équivalent de 7 g sec d'échantillon/35 mL de liquide ». Pour ce faire, il importe de mesurer, au préalable, la siccité de l'échantillon. Cette meure permet de savoir quelle quantité d'échantillon frais est nécessaire pour avoir 7 g d'échantillon sec. Le volume de diluant à ajouter est obtenu en soustrayant des 35 mL, la teneur en eau de l'échantillon. Nous avons conservé cette approche pour la réalisation de cet essai sur la fraction particulaire d'un échantillon de RUTP.

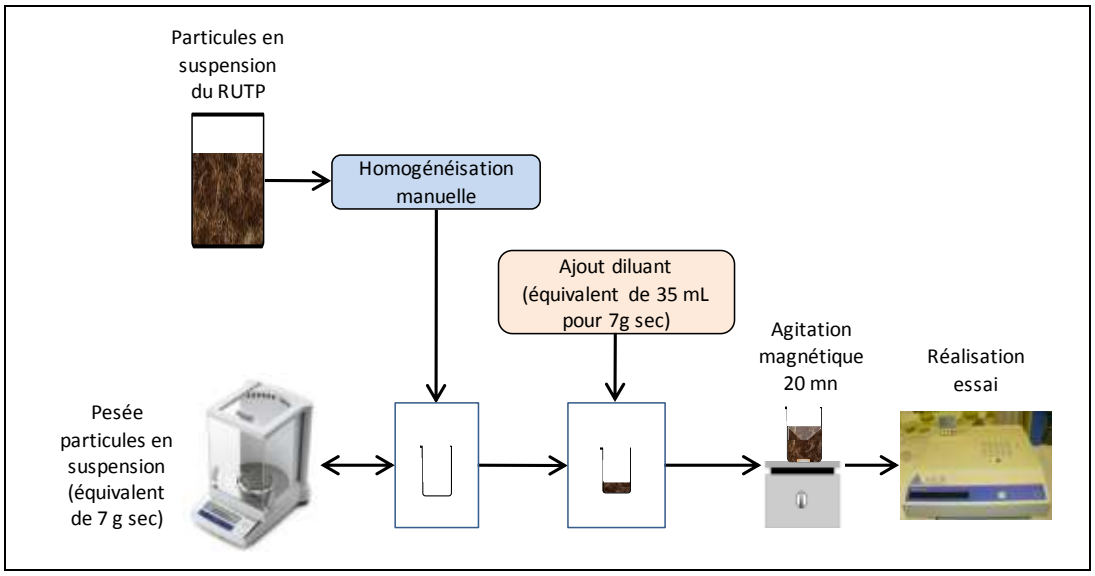


Figure 20 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Basic Solid Phase Test (avec I_0) sur la fraction particulaire d'un RUTP**

Les équations utilisées pour calculer les effets inhibiteurs de l'échantillon sur la base de la gamme de dilutions testée sont les mêmes que celles présentées pour le test sur phase liquide, au paragraphe II.2.322 de la partie « Matériels et Méthodes ».

Il n'y a aucune indication précise dans le protocole utilisé en ce qui concerne les critères de validité de l'essai. Dans le cadre de notre étude, nous avons adopté les mêmes critères et la même démarche qui permettent de valider l'essai sur phase liquide. Ces derniers figurent dans la norme [NF EN ISO 11348-3, 1999]. Les résultats seront présentés sous la forme de CE_{20} (concentration efficace qui inhibe de 20% la luminescence de la suspension de bactéries mise en expérimentation durant la période d'essai).

Dans la mesure où les résultats sont validés, les données expérimentales (lorsqu'elles le permettent) sont alors traitées au moyen d'outils adaptés (logiciel de calcul, interpolation graphique) en vue de déterminer la valeur de CE_{20}-20 min pour l'échantillon testé.

II.2.332. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments (*Heterocypris incongruens* - Hi)

II.2.3.3.2.1. Présentation de l'organisme test

Anatomie - Biologie - Ecologie :

Les ostracodes sont de minuscules arthropodes qui appartiennent au *phylum* des crustacés. Ils possèdent des carapaces constituées par deux coquilles ovoïdes de calcite faiblement magnésienne, bordées d'une frange de cils. Cette carapace est formée de 2 valves latéralement allongées et articulées dorsalement au niveau de la charnière. Les différents appendices de cet organisme sortent entre ces deux coquilles. Les crustacés possèdent, dans la majorité des cas, 7 paires

d'appendices. Ces différents appendices (antennes, pattes, rame caudale, …) leurs facilitent la locomotion, la palpation, la préhension, la mastication, l'enfouissement. Deux yeux noirs apparaissent dans la partie supérieure de la coquille. Le reste du corps est totalement camouflé à l'intérieur des valves. Leur système digestif est simple : bouche, estomac, intestin, anus. Les échanges gazeux se font à travers la carapace, au niveau des pores. Les échanges sont favorisés par les courants d'eau créés par les appendices. Ces mêmes courants d'eau permettent à l'organisme de se nourrir car ils entraînent à la bouche des détritus (débris organiques), des bactéries et des algues [Wansard, 1999] ; [USGS, 2001] ; [Harper et Cloutier, 2005] ; [Wansard, 2006] ; [Crasquin-Soleau, 2008].

Les ostracodes ont une carapace de taille moyenne allant de 0,15 mm à 2 mm. Les plus grandes formes actuelles connues atteignent 25 à 30 mm de long pour des espèces marines et 80 mm pour les formes fossiles. Il existe des espèces d'eau douce qui peuvent atteindre jusqu'à 5 mm de long. Même si les sexes sont fondamentalement séparés chez les ostracodes, leur reproduction est toutefois parthénogénétique dans un bon nombre de groupes, surtout en milieu continental. Dans tous les cas, la femelle pond des œufs qui peuvent avoir des formes de résistance exceptionnelle en particulier à la dessiccation, la congélation et au suc gastrique des animaux supérieurs. Cette dernière spécificité leurs permet d'être ingérés par des oiseaux ou autres organismes et être disséminés sur des distances importantes. L'œuf donne naissance à une larve appelée nauplius qui est déjà pourvu d'une carapace et de trois paires d'appendices. Les larves ont un mode de vie identique à celui des adultes. La croissance se fait par mues successives (environ huit fois avant de devenir un adulte). En une journée l'ostracode a une nouvelle carapace rigide [USGS, 2001] ; [Harper et Cloutier, 2005] ; [Crasquin-Soleau, 2008].

On retrouve les ostracodes dans tous les types de substrats et dans l'ensemble des milieux aquatiques, depuis des mares temporaires jusqu'au fonds abyssaux. Certains poissons se nourrissent de ces organismes. Quelques espèces d'ostracodes sont épibenthiques (nagent au-dessus du substrat), d'autres pélagiques mais en grande majorité ils sont planctoniques, nageurs ou benthiques, rampant ou fouisseurs dans la boue ou la vase, ou sur le fond. Le développement des ostracodes est contrôlé par les interactions d'un ensemble de facteurs dont les pricipaux sont : la salinité, la température, la nature du substratum, la bathymétrie, la quantité de nutriments. Le substrat a une très grande importance pour ces organismes puisqu'en grande majorité les ostracodes sont benthiques (98 à 99% des espèces). Les sédiments grossiers (sables purs, oolithes, …) ont une population d'ostracodes très restreinte tandis que les sédiments mixtes sableux et argileux ainsi que les sédiments pélitiques renferment une faune beaucoup plus importante. Ces organismes sont abondants dans les premiers centimètres du sédiment mais peuvent vivre jusqu'à 15 cm de profondeur. Les nutriments, en particulier la quantité de matière organique, sont reconnus comme étant un facteur contrôlant le développement des faunes d'ostracodes [USGS, 2001] ; [Crasquin-Soleau, 2008].

La littérature fait état de plus de 50 000 espèces d'ostracodes. Ces organismes sont utilisés depuis les années 70 pour étudier la toxicité de pesticides. Même si l'essai ostracode (notamment *Heterocypris incongruens*) n'est pas normalisé, on l'utilise pour mettre en évidence le caractère toxique de certains sédiments, en raison du fait qu'il favorise un contact direct entre l'organisme et

l'échantillon. Les ostracodes sont également très utilisés dans les études paléolimnologiques [Wansard, 1999] ; [USGS, 2001] ; [Harper et Cloutier, 2005] ; [Oleszczuk, 2008].

Organisme utilisé :

L'organisme utilisé est commercialisée à l'état de sporocystes vendus dans le commerce dans des kits dénommés « Ostracodtoxkit™ F ». Ce Toxkit est développé par la société belge MicroBioTests Inc.

II.2.3.3.2.2. Protocole de réalisation de l'essai ostracode

Ce bioessai est un test de toxicité chronique qui est réalisé en 6j et mis en œuvre selon les indications du manuel standard de « Ostracodtoxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments » [MicroBioTests Inc., 2004]. Une fiche récapitulative reprenant les grandes lignes de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A).

Le principe général de cet essai repose sur la mise en contact direct de l'organisme avec le sédiment ou la matrice solide à tester auquel on rajoute des volumes fixes de suspension algale et de milieu de dilution préparé selon les indications du protocole [MicroBioTests Inc., 2004]. Un témoin utilisant un sédiment de référence (fourni dans le « kit ») sert de base de comparaison pour apprécier l'effet de l'échantillon mis en expérimentation sur les ostracodes. L'essai se déroule en microplaques de six puits à raison d'une microplaque par échantillon et une microplaque pour le témoin. Les critères d'effets sont la mortalité des organismes ainsi que la croissance des organismes par rapport à leur taille initiale (en début d'essai).

On mesure, en début d'essai, la taille d'un ensemble (10 organismes isolés puis immobilisés avec du lugol) représentatif du lot utilisé pour la conduite de l'essai. La mise en contact se fait à raison de 10 organismes par puits pour chaque microplaque ; les microplaques sont ensuite incubées pendant 6j selon les directives du protocole [MicroBioTests Inc., 2004]. A ce stade, on travaille sur une population de 60 organismes pour le témoin et de 60 organismes pour chaque échantillon testé. A la fin de l'essai, on dénombre les organismes vivants par puits. Ces derniers sont par la suite immobilisés avec du lugol en vue de mesurer leur taille individuelle. Ces données sont consignées, par puits, pour le témoin. On procède de la même façon pour les échantillons testés.

Suite à l'appréciation visuelle (au moyen d'une loupe binoculaire) des deux critères d'effets de l'essai (mortalité et croissance des organismes), on procède au traitement des données. La mortalité traduit le pourcentage moyen d'organismes morts à la fin de la période d'incubation par rapport à la population initiale mise en expérimentation.

En ce qui concerne la croissance des organismes, on procède d'abord au calcul de la taille moyenne des organismes par puits d'essai. Par la suite, on évalue tant pour le témoin que pour l'échantillon, l'augmentation observée au niveau de la taille des organismes pour chaque puits, par rapport à leur taille moyenne en début d'essai, en utilisant l'équation 9 :

$$\Delta L_{i\ (\mu m)} = \overline{L_i} - \overline{L_0} \qquad \textbf{Equation 9}$$

où : ΔL_i = augmentation moyenne de la taille des organismes pour le puits « i » (avec i allant de 1 à 6)

$\overline{L_i}$ = longueur moyenne (µm) des organismes pour le puits « i » en fin d'essai (après 6j)

$\overline{L_0}$ = longueur moyenne (µm) des organismes en début d'essai

Suite à ce calcul, on détermine la valeur moyenne de ΔL pour les 6 répliques du témoin ($\overline{\Delta L_T}$) et pour les 6 répliques de l'échantillon ($\overline{\Delta L_{ech}}$). L'inhibition de la croissance des organismes s'évalue au moyen de l'équation 10 :

$$IC_{(\%)} = \frac{\overline{\Delta L_T} - \overline{\Delta L_{ech}}}{\overline{\Delta L_T}} \times 100 \qquad \textbf{Equation 10}$$

où : IC = pourcentage moyen d'inhibition de la croissance des organismes

$\overline{\Delta L_T}$ = augmentation moyenne de la longueur des organismes pour le témoin (% à la taille en début d'essai)

$\overline{\Delta L_{ech}}$ = augmentation moyenne de la longueur des organismes pour l'échantillon (% à la taille en début d'essai)

Les paramètres permettant de valider l'essai sont également suivis et mesurés conformément aux recommandations du protocle d'essai. Cet essai n'étant pas réalisé sur la base d'une gamme de dilutions, par conséquent, on ne peut pas déterminer de valeur de CE_{20} pour l'échantillon testé sur la base des critères d'effets suivis. Les résultats seront exprimés en pourcentage d'effets observés.

II.2.34. Synthèse de l'approche « matrice » proposée pour caractériser les effets d'un échantillon de RUTP

La **Figure 21** synthétise la démarche proposée pour caractériser les effets écotoxicologiques d'un échantillon de RUTP, en adoptant une approche « matrice ». Cette démarche repose sur la mise en œuvre des essais, présentés dans les paragraphes précédents, qui constituent la batterie de bioessais mono-spécifiques proposée.

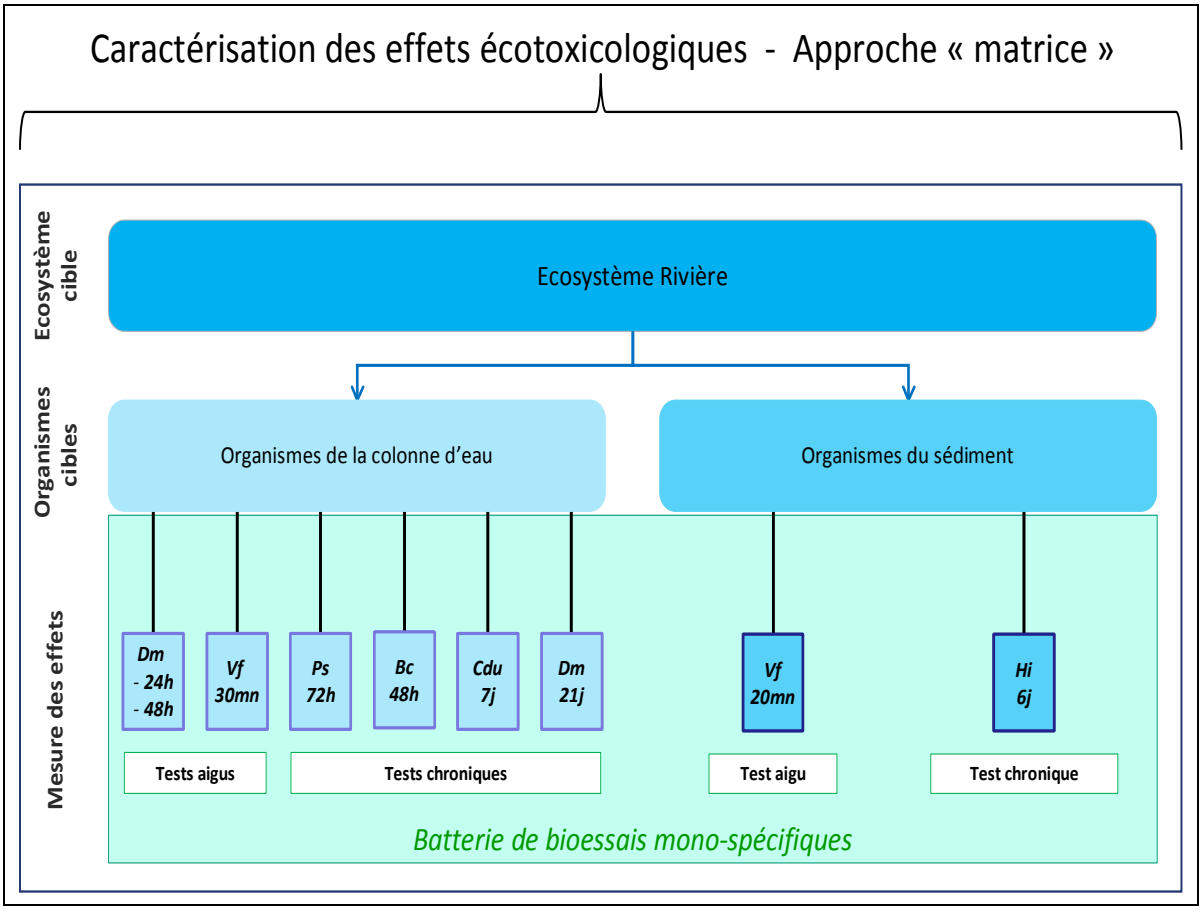
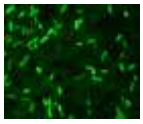


Figure 21 : **Démarche retenue pour la caractérisation des effets écotoxicologiques d'un échantillon de RUTP selon une approche « matrice » au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques**

Le Tableau 20 présente les orgnanismes tests, la fraction (eau ou particules) concernée ainsi que les critères d'effet retenus pour chaque bioessai mono-spécifique contituant la batterie d'essais proposée.

Tableau 20 : Organismes et critères d'effet pour les essais mono-spécifiques constituant la batterie de bioessais sélectionnés pour la caractérisation écotoxicologique d'un échantillon de RUTP

Type de toxicité	Essai	Norme ou Protocole	Organisme test	Fraction de l'échantillon	Critère d'effet (durée exposition)
Aiguë	Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss*	NF EN ISO 6341 (T 90-301)		Eau	**Mobilité** (24 h et 48 h)
	Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri*	NF EN ISO 11348-3		Eau	**Luminescence** (30 mn)
		Microtox® Basic Solid Phase Test avec I_0		Particules	(20 mn)
Chronique	Inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata*	NF T 90-375		Eau	**Croissance de la population** (72 h)
	Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater (*Brachionus calyciflorus*)	Guide standard de procédure pour Rotoxkit™ F chronique Ou Pr NF ISO 20666		Eau	**Croissance de la population** (48 h)
	Inhibition de la croissance de la population de *Ceriodaphnia dubia* en 7 jours	NF T 90-376		Eau	**Croissance de la population et Reproduction** (7 j)
	Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *Daphnia magna Strauss* en 21 jours	ISO/FDIS 10706		Eau	**Croissance de la population et Reproduction** (21 j)
	OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments (*Heterocypris incongruens*)	Guide standard de procédure pour Ostracodtoxkit™ F chronique		Particules	**Mortalité et Croissance des organismes** (6 j)

II.2.35. Traitement des résultats

Dans le cadre de cette étude, l'écotoxicité de l'échantillon testé est exprimée sous la forme de CE_{20}. Lorsque les données expérimentales recueillies pour la gamme de dilutions testées le permettent, ces dernières ont été traitées en utilisant la macro « REGTOX » (EV 7.0.5) [Vindimian *et al.*, 1983]. Les valeurs CE_{20} ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% (IC 95%) ont été estimés par simulation sur les résidus pondérés (500 simulations). Les résultats sont exprimés en « % d'échantillon ».

La comparaison des CE_{20} s'appuie sur la comparaison des IC95%. Deux valeurs de CE_{20} sont dites significativement différentes lorsque leurs IC95% sont disjoints [Clément, 1994].

II.2.36. Détermination des valeurs de PNEC

Les valeurs de PNEC seront déterminées aussi bien pour la colonne d'eau que pour les sédiments, pour les approches « substances » et « matrice » au moyen de la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques.

II.2.361. Valeurs de PNEC déterminées selon l'approche « substances »

Dans le cadre de l'approche « substances », la consultation des Bases de Données Internationales (BDI), de documents de projets internationaux constitue la principale piste de recherche pour les valeurs de PNEC associées aux polluants traceurs de risque retenus pour les deux compartiments du cours d'eau (colonne d'eau et sédiments). Cette condition générale est mise en application pour les deux études de cas réalisés (scénario français et scénario haïtien).

Une liste (non-exhaustive) des bases de données existantes est présentée dans la partie « Annexe » de ce document (voir Annexe I).

II.2.362. Valeurs de PNEC déterminées selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

Pour l'approche « matrice », les valeurs de PNEC sont déterminées pour les deux compartiments étudiés (colonne d'eau et sédiments), au moyen des informations relatives à la détermination des PNEC à partir de données écotoxicologiques figurant dans la fiche de synthèse présentée par l'INERIS [2003a]. Dans le cadre de cette étude, la méthode des facteurs d'extrapolation a été retenue.

Ainsi, l'essai qui se révèle le plus sensible (plus faible valeur de CE_{20}) est retenu pour la poursuite du processus d'estimation des valeurs de PNEC. La valeur de CE_{20} sélectionnée est ensuite divisée par un facteur d'extrapolation, tiré de la proposition de l'Union Européenne ([C. E., 2003] ; [INERIS, 2003a]), sur la base des caractéristiques de la batterie de bioessais mise œuvre pour caractériser l'échantillon prélevé. Les deux études de cas réalisées dans la partie « Résultats » présentent les choix réalisés dans chacun de ces cas.

II.3. CARACTERISATION DU RISQUE

II.3.1. Approche retenue pour la caractérisation du risque

Pour la caractérisation du risque, l'approche retenue est celle du rapport « PEC/PNEC » qui est généralement utilisé pour estimer l'impact d'une substance rejetée dans le milieu aquatique [INERIS, 2003a]. Selon le résultat obtenu suite au calcul de ce rapport, dénommé « Indice de Risque (IR) », pour chacun des compartiments étudiés (colonne d'eau et sédiment), on sera en mesure de dire si un risque a été mis en évidence ou non :

- **IR > 1** → **existence d'un risque pour le cours d'eau récepteur** ;
- **IR < 1** → **le cours d'eau récepteur n'est pas directement menacé.**

II.3.2. Estimation de l'indice de risque suivant les trois approches de caractérisation des effets écotoxicologiques utilisées

II.3.211. Indice de risque estimé selon l'approche « substances »

Un indice de risque (IR) est calculé pour les traceurs de risque retenus pour la colonne d'eau ($IR_{Eau\text{-}S}$) et pour les sédiments ($IR_{Séd\text{-}S}$). Le traceur de risque pour lequel la valeur de l'IR est le plus élevé pour chacun de ces compartiments sera retenu pour l'appréciation du risque pour le compartiment concerné. En ce qui concerne le scénario étudié, le risque qui lui est associé est apprécié au moyen des valeurs d'indice de risque pour les deux compartiments.

Le milieu récepteur est considéré comme n'étant pas directement impacté dans le cadre de l'approche « substances » si :

$$IR_{Eau\text{-}S} < 1 \quad \text{et} \quad IR_{Séd\text{-}S} < 1.$$

II.3.212. Indice de risque estimé selon l'approche « substances avec effets combinés »

Cette approche nécessite la connaissance des informations relatives aux interactions ou effets combinés qui peuvent être mis en évidence pour les traceurs de risques lorsqu'ils sont en mélange. Dans le cadre de notre étude, les effets combinés de certains de ces traceurs de risques ont été étudiés pour des organismes représentatifs de la colonne d'eau. En ce qui concerne le compartiment sédiment, la recherche bibliographique effectuée, en rapport à l'étude des effets combinés vis-à-vis d'organismes du sédiment (milieu d'eau douce), n'a pas été concluante. Faute de données suffisantes, il n'a été possible de déterminer des valeurs de PNEC pour des organismes de ce compartiment. Il n'est, par conséquent, pas prévu de calculer des indices de risque pour des organismes du sédiment sur la base d'une approche « substances avec effets combinés ».

Dans le cadre de cette étude, il a été choisi de procéder à l'estimation de l'indice de risque pour les organismes de la colonne d'eau selon l'approche « substances avec effets combinés » ($IR_{Eau\text{-}SEC}$ avec SEC : Substances avec Effets Combinés) sur la base :

- des principaux résultats de la section consacrée à l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants présents dans les RUTP (paragraphe I de la partie « Résultats ») ;
- des recommandations de l'INERIS [2003a] relatives au cas des mélanges de substances.

Au cas où des effets additifs sont mis en évidence, les $IR_{Eau\text{-}SEC}$ pour les différents traceurs de risque seront additionnés en vue d'obtenir un indice de risque ($\Sigma(IR_{Eau\text{-}SEC})$) pour l'échantillon de RUTP étudié, selon les indications de l'INERIS [2003a]. On procèdera alors à l'appréciation du risque lié au scénario étudié sur la base de la valeur obtenue pour $\Sigma(IR_{Eau\text{-}SEC})$ dans le cadre d'une approche « substances avec effets combinés ».

Si, par contre, les effets mis en évidence s'apparentent à des effets de synergie (légère, modérée ou synergie stricte) ou à des effets d'antagonisme (léger, modéré ou antagonisme stricte), seule une appréciation qualitative du risque pour le milieu récepteur pourra être réalisée sur la base de cette approche.

II.3.213. Indice de risque estimé selon l'approche « matrice » au moyen de la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

Dans le cadre de l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques, un indice de risque (IR) sera calculé pour le compartiment de la colonne d'eau ($IR_{Eau\text{-}MBM}$, avec MBM : Matrice avec mise en œuvre de Bioessais Mono-spécifiques) et pour le compatiment des sédiments ($IR_{Séd\text{-}MBM}$). Les valeurs d'indice de risque ainsi obtenues permettent d'apprécier le risque pour chacun des compartiments concernés. En ce qui concerne le risque lié au scénario étudié, il est apprécié au moyen des valeurs d'indice de risque pour les deux compartiments.

Le milieu récepteur est considéré comme n'étant pas directement impacté dans le cadre de l'approche « matrice » avec mise en œuvre de bioessais mono-spécifique si :

$$\mathbf{IR_{Eau\text{-}MBM} < 1 \quad et \quad IR_{Séd\text{-}MBM} < 1.}$$

CARACTERISATION DE L'ECHANTILLON DE RUTP PRELEVE EN FRANCE DANS LA COMMUNE DE GREZIEU-LA-VARENNE

RUTP DU DEVERSOIR D'ORAGE (DO) DU PONT DE LA BARGE SE DEVERSANT DANS LA RIVIERE CHAUDANNE

III. CARACTERISATION D'UN ECHANTILLON DE RUTP PRELEVE EN FRANCE - DO DU PONT DE LA BARGE SE DEVERSANT DANS LA RIVIERE CHAUDANNE (COMMUNE DE GREZIEU-LA-VARENNE)

III.1. INTRODUCTION

Cette section du document présente la démarche adoptée en vue de caractériser un échantillon de RUTP prélevé en France. Par souci de faciliter la lecture du document, il a été choisi de présenter en détail cette étape de caractérisation dans une section séparée de celle présentant la méthodologie générale proposée pour évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans un milieu aquatique lotique.

La démarche adoptée en vue de réaliser la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique de l'échantillon de RUTP prélevé à Grézieu-La-Varenne (en France) est présentée dans les paragraphes suivants. Les résultats découlant de cette phase de caractérisation de l'échantillon seront par la suite utilisés en vue de procéder à l'évaluation des risques pour le scénario français.

III.2. PRESENTATION DU SITE DE PRELEVEMENT (FRANCE)

III.2.1. Présentation de la zone d'étude et de son Bassin-Versant

Le bassin-versant (BV) retenu pour le scénario en France est celui de la Chaudanne. Ses limites s'étendent de la Source Chaudanne jusqu'au vieux Pont de la Barge qui est l'exutoire de ce BV. Les informations sur ce bassin-versant proviennent essentiellement de données tirées de documents de recherche [Gnouma, 2002], [Radojevic *et al.*, 2002], [Gnouma, 2006], [Vivier, 2006], de rapports d'expertise, de rapports de recherche ou d'informations collectées auprès de M. Pascal BREIL du CEMAGREF de Lyon.

La rivière Chaudanne ou le ruisseau de la Chaudanne est un petit affluent en rive gauche de l'Yzeron qui est une rivière de l'Ouest lyonnais. L'Yzeron s'étend sur 26 km et constitue un affluent en rive droite du fleuve Rhône. De manière générale, le bassin-versant de l'Yzeron est situé dans la région Rhône-Alpes et se caractérise par des étiages sévères d'été qui succèdent à des crues abondantes d'automne et de printemps, l'hiver ayant généralement moins d'activité hydrologique. Le BV de l'Yzeron présente un gradient urbain, d'ouest en est, du rural à l'urbain dense. La partie péri-urbaine de ce BV s'anthropise fortement depuis quelques décennies ; sa superficie est passée de 15 à 30% entre 1970 et 1990 au détriment des surfaces agricoles.

En ce qui concerne la Chaudanne, c'est un Bassin-Versant de Recherche Expérimental (BVRE) qui sert de site atelier à l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine (OTHU) pour travailler sur la problématique des cours d'eau péri-urbains. Le bassin-versant de la Chaudanne est situé sur la Commune de Grézieu-La-Varenne, au nord-ouest de la ville de Lyon (Département Rhône-Alpes). Il est de forme allongée et présente une superficie de 2,8 km². Son altitude et sa pente moyennes sont respectivement de 374,5 m et 0,07 m/m. La longueur du BV de la Chaudanne est de 2,5 km de la Source Chaudanne jusqu'au Déversoir d'Orage (DO) situé au niveau du vieux Pont de la Barge. Les

altitudes extrêmes de ce BV sont comprises entre 443 m et 306 m (DO du Pont de la Barge). La **Figure 22** présente la configuration globale du bassin-versant.

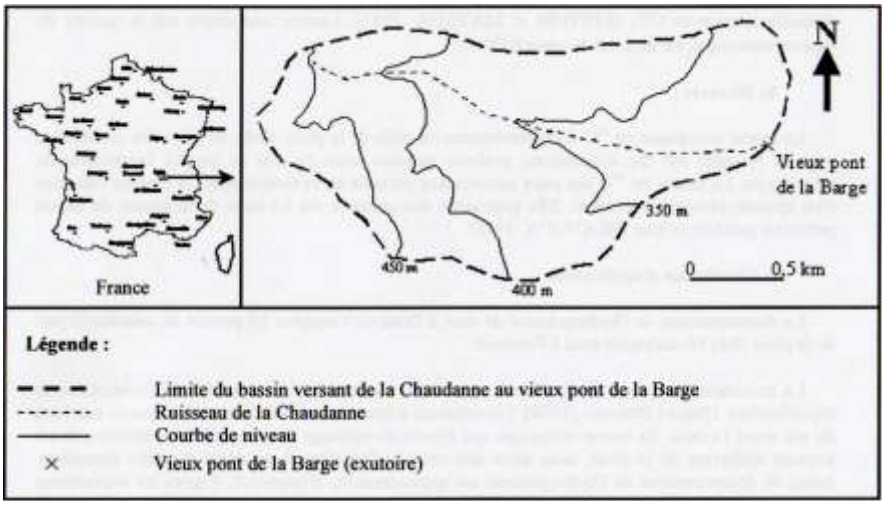


Figure 22 : **Bassin-versant de la Chaudanne jusqu'au DO du Pont de la Barge (Carte IGN 2931 E : l'Arbresle ; tirée de [Gnouma, 2002])**

Le déversoir d'orage (DO) du Pont de la Barge se rejette dans la rivière Chaudanne qui prend naissance au niveau de la Source Chaudanne. Ce DO est associé à un réseau unitaire et il déverse, en temps de pluie, des eaux pluviales et des eaux résiduaires urbaines. La rivière Chaudanne présente une pente moyenne de 0,05 m/m, sa longueur totale est de 3,8 km (de la source à la confluence entre la Chaudanne et l'Yzeron) et sa largeur oscille entre 0,5 et 1,5 m. Le débit d'étiage de cette rivière varie de 0 (en période estivale) à 10 L/s. Le débit moyen de la rivière Chaudanne est de l'ordre de quelques dizaines de litres par seconde et peut atteindre plus de 250 L/s lors de fortes pluies et suite à l'apport des rejets du déversoir d'orage et la contribution des rejets ponctuels et diffus. En ce qui concerne la pluviométrie moyenne annuelle du bassin-versant de la Chaudanne, Kesslller et Chamraud [1990] l'ont estimé à 800 mm et ils soulignent qu'elle est bien répartie sur toute l'année au niveau de ce BV. La **Figure 23** présente différentes vues de la rivière Chaudanne : en amont du pont, au niveau du pont et en aval du pont.

Le débit de la rivière Chaudanne peut, certes, être nul en été, ce qui porte à la considérer comme une rivière à écoulement non permanent, mais [Orczyk, 2001] a souligné que l'apparition de ce phénomène est toujours retardé par un ressuyage de l'ordre d'une semaine qui traduit la présence d'un sous-écoulement important. Ce sous-écoulement provient d'une nappe d'accompagnement, de profondeur variable, située dans les arènes granitiques qui caractérise le substrat dominant des rivières du secteur de l'Yzeron.

Figure 23 : **Présentation de la zone à proximité du Pont de la Barge (Photos : [Gnouma, 2006] ; Angerville, 2008)**

Du point de vue géologique, le substratum du BV de la Chaudanne est composé de granite gneissique. Du point de vue pédologique, les sols de ce bassin-versant sont caractérisés par des formations granitiques avec des sols bruns modaux sur roche granito-gneissique. Plus de 80% des analyses de sol réalisées concluent à une dominance sablo-limoneuse à sablo-argileuse des terres. Leurs profondeurs varient de 90 à 160 cm. Pour plus de détails sur ces aspects, le lecteur est invité à consulter les documents suivants : carte géologique de la France, carte pédologique des coteaux du lyonnais, Bernoud [1998], Gnouma [2002] et [2006].

Le bassin-versant de la Chaudanne peut être divisé en deux parties : la partie haute de type rural, de 2,2 km² de superficie, a des pentes dépassant fréquemment les 5% ; l'autre partie de type urbain, d'une superficie de 0,6 km², présente des pentes de l'ordre de 3%. Orczyk [2001] a estimé le coefficient d'imperméabilisation de cette partie urbaine à 40%. D'après Bernoud [1998], la surface agricole utile du bassin-versant de la Chaudanne représente 80% de sa surface totale.

III.3. CAMPAGNE DE PRELEVEMENTS

La campagne de prélèvements a été réalisée au début du mois de février 2007, suite à l'événement pluvieux du 06 février 2007.

III.3.11. Point de prélèvement

Le point de prélèvement est le Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge, qui est l'exutoire du bassin-versant d'étude, le BV de la Chaudanne. La **Figure 24** est une prise de vue de la zone de prélèvement au cours d'un épisode pluvieux.

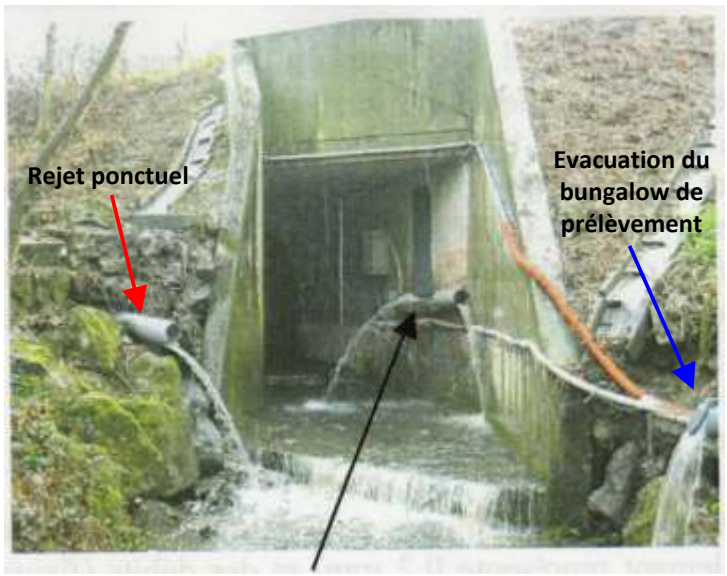


Figure 24 : **Prise de vue de la zone de prélèvement au cours d'un épisode pluvieux (Photo : [Gnouma, 2006])**

III.3.12. Prélèvement, conditionnement et préparation de l'échantillon de RUTP

L'échantillon prélevé a été récupéré, avec l'aide du CEMAGREF de Lyon, au moyen du préleveur automatique installé dans le bungalow B1 à proximité du Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge qui était relié à un fût de 50 L, en polyéthylène. Il a fallu une vingtaine de minutes pour récupérer près d'une quarantaine de litres d'échantillon. Dans un délai inférieur à 12 heures, l'échantillon a été récupéré sur le site et ramené au laboratoire. Dès notre arrivée au laboratoire on a procédé à une homogénéisation manuelle de l'échantillon par brassage avant de le séparer en fonction des volumes nécessaires à sa caractérisation physico-chimique et à sa caractérisation écotoxicologique. La portion restante a été transférée dans des flacons en polyéthylène puis conservée au congélateur.

III.4. CARACTERISATION DE L'ECHANTILLON DE RUTP DU DO DU PONT DE LA BARGE

III.4.1. Caractérisation physico-chimique

Dans le cadre de cette étude, deux options ont été adoptées pour la caractérisation physico-chimique de l'échantillon de RUTP prélevé : l'utilisation des compétences d'un laboratoire accrédité et le dosage en l'interne. La majeure partie des analyses a été confiée aux Laboratoires Wessling. Une batterie d'analyses physico-chimiques a été définie en vue de procéder à une caractérisation détaillée de l'échantillon prélevé.

En ce qui concerne les métaux, ils ont été dosés dans les trois fractions de l'échantillon : brute, dissoute et dans les particules. Ces analyses ont été réalisées au LSE de l'ENTPE et au LGCIE de l'INSA de Lyon. Cette décision trouve son origine dans le fait que les capacités analytiques des Laboratoires Wessling ne permettent pas de doser les métaux ni dans l'échantillon brut ni dans les particules. Le

Tableau 21 et le Tableau 22 présentent les paramètres retenus pour caractériser globalement l'échantillon mais également pour caractériser les particules de l'échantillon de RUTP prélevé en France. Ces particules ont été récupérées par centrifugation (9300 tours/mn pendant 20 mn) suivie d'une filtration à 1,2 µm.

Nous avons également procédé à des dosages sur des fractions congelées de l'échantillon. Les principaux paramètres retenus sont présentés dans le Tableau 23. Ce choix et cette sélection de paramètres vont nous permettre, d'une part, d'apprécier l'effet de la congélation sur les paramètres sélectionnés et, nous serviront, d'autre part, de repère en ce qui concerne les analyses à réaliser sur les échantillons provenant d'Haïti. Les données ainsi obtenues nous seront très utiles pour apprécier les résultats de la caractérisation des échantillons de RUTP prélevés en Haïti (voir section IV à la page 177) puisque la majeure partie de notre démarche de caractérisation des échantillons provenant d'Haïti est réalisée sur des échantillons préalablement congelés.

La sélection des paramètres retenus repose essentiellement sur la nécessité de disposer de paramètres : (i) simples et rapides à doser, (ii) constituants de bons indicateurs de pollution pour ce type de rejet, (iii) ne nécessitant pas l'utilisation de volumes importants pour leur dosage, (iv) suceptibles d'aider à l'interprétation de la nature des effets écotoxiques qui seront mis en évidence au cours de la caractérisation écotoxicologique de l'échantillon. Ces analyses seront essentiellement réalisées sur les filtrats utilisés pour réaliser les essais écotoxicologiques. Certains paramètres seront également dosés dans l'échantillon brut.

Caractérisation de l'échantillon « frais » (brut et filtré) :

Les trois bungalows (B1, B2 et B3) se trouvant sur le site de la Chaudanne sont équipés de préleveurs automatiques et d'appareils permettant de faire certaines mesures à des pas de temps prédéfinis. Le bungalow B1 est celui qui se trouve à proximité du déversoir d'orage (DO). Les appareils installés au niveau de ce bungalow sont déclenchés pour certains rejets du déversoir d'orage. Ces derniers ont été déclenchés pour effectuer des mesures pour les RUTP qui ont été prélevés dans le cadre de cette étude. Les données relatives aux mesures[3] réalisées pour l'échantillon prélevé le 06 février 2008 ont été transmises par le CEMAGREF de Lyon. Ces données concernent : le pH, la conductivité, le COD, les nitrates, les ortho-phosphates et l'ammonium,.

En ce qui concerne la caractérisation au laboratoire, le Tableau 21 présente les paramètres retenus et les protocoles utilisés pour caractériser l'échantillon de RUTP prélevé en France. Ces analyses sont réalisées sur l'échantillon brut (eau chargées en MES) et sur la fraction filtrée de l'échantillon.

Pour les éléments métalliques dosés au LSE, leur teneur dans la fraction brute de l'échantillon a été déterminée en procédant en premier lieu à une minéralisation par attaque acide à l'eau régale suivi d'un dosage par Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA). La minéralisation est réalisée dans un four à micro-ondes de type CEM (Xpress). Le cycle de minéralisation par four à micro-ondes de type CEM a été adapté de la norme NF EN ISO 15587-1 [2002]. Le programme utilisé est le suivant :

[3] Les données recueillies proviennent de mesures fractionnées réalisées sur des pas de temps définis.

montée à 175°C en 10 minutes puis stabilisation à 175°C pendant 20 minutes. Les solutions obtenues sont filtrées au moyen de filtres Whatman 541 avant analyse par absorption atomique.

L'appareil utilisé pour la SAA est un spectromètre HITACHI modèle Z-8 200. Le Zn est dosé par absorption à la flamme selon la norme NF T 90-112 [1998] ; les 5 autres métaux sont dosés par spectrométrie en four graphite selon une adaptation de la norme NF T 90-119 [1998]. Ces deux méthodes fonctionnent sur le même principe de détection : absorption de la lumière émise par une lampe. Elles permettent d'accéder à la concentration en métal, sans fournir d'indications sur la forme sous laquelle il se trouve. Les gammes d'étalonnage ont été préparées dans une matrice d'eau ultra-pure acidifiée à 0,5 % d'HNO_3.

Pour le dosage du Pb, on a utilisé des modificateurs de matrice [$NH_4H_2PO_4 + Mg(NO_3)_2$] qui sont nécessaires pour certains dosages délicats à l'état de traces en four graphite. Ces modificateurs de matrice permettent de compenser les interférences dues aux effets de la matrice analysée.

Les concentrations en métaux dissous ont été dosées sur des échantillons filtrées à l'aide de filtres en nitrate et acétate de cellulose (Whatman). Ces filtres présentent l'avantage d'être minéralisables avec de l'eau régale pour la mesure des métaux et sont exempts des métaux choisis. Les filtrats à 0,45 µm obtenus sont acidifiés (pH < 2) par ajout de quelques gouttes d'HNO_3 Suprapur à 65 % (Merck) en vue de les stabiliser en attendant leur analyse.

Ces mesures sont réalisées par SAA au LSE et par spectrophotométrie (ICP-AES), selon la norme EN ISO 11 885 [1998], au LGCIE. Les limites de quantification (LQ) étant différentes pour chacun de ces paramètres selon la méthode utilisée (SAA ou ICP), nous ne présenterons que les résultats obtenus par la méthode la plus sensible (plus faible LQ).

Tableau 21 : Caractérisation physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme	LQ
Paramètres globaux	pH	Brut et filtré	DIN 38 404 C5 (eq. NFT90-008)	-
	Conductivité	Brut et filtré	EN 27888	10 µS/cm
	Potentiel redox	Brut et filtré	DIN 38 404 C6	-
	DBO_5	Brut et filtré	EN 1899-2	3 mg/L
	DCO	Brut et filtré	DIN 38 409 H41 (eq. NFT90-101)	15 mg/L
	MES	Brut et filtré	EN 872	10 mg/L
	COD	Filtré	EN 1484	0,5 mg/L
	O_2 dissous	Brut et filtré	EN 25 814	0,1 mg/L
	ortho-phosphates (P)	Brut et filtré	ISO 6878	0,01 mg/L
	P total	Brut et filtré	EN ISO 11885 (ICP)	0,05 mg/L
	SO_4	Brut et filtré	EN ISO 10 304	1 mg/L
	Chlorures	Brut et filtré	EN ISO 10 304	5 mg/L
	Nitrates	Brut et filtré	EN ISO 10 304	5 mg/L
	Substances lipophiliques (NV)	Brut et filtré	DIN 38 409 H17	5 mg/L
	Indice hydrocarbures (HCT)	Brut et filtré	EN ISO 9377-2 (GC-FID)	0,1 mg/l
Métaux	Cadmium (Cd)*	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr)*	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu)*	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni)*	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb)*	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn)* et **	Brut et filtré	NF T 90-112 (SAA-flamme) : brut* EN ISO 11 885 (ICP-AES) : filtré**	100 µg/L* 1 µg/L**

* Analyses réalisées au LSE ; ** Analyse réalisée au LGCIE

Le dosage des métaux pour l'échantillon brut a été réalisé suite à la minéralisation de ce dernier

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme	LQ
Pesticides	Pesticides organo-chlorés : Aldrine; o,p'-DDD; p,p'-DDD; o,p'-DDE; p,p'-DDE; o,p'-DDT; p,p'-DDT; Dieldrine; Endrine; alpha-Endosulfane; beta-Endosulfane; Heptachlore; Heptachlore-epoxide; Hexachlorobenzène; alpha-Hexachlorocyclohexane; beta-Hexachlorocyclohexane; gamma- Hexachlorocyclohexane; delta-Hexachlorocyclohexane; epsilon-Hexachlorocyclohexane; Methoxychlore; Pentachlorobenzène; Pentachloronitrobenzène; 1,2,3,4-Tetrachlorobenzène; 1,2,3-Trichlorobenzène; Triallat	Brut et filtré	DIN 38 407 F2	0,03 µg/L
	Autres pesticides : Bentazone; Bromoxynil; Chlopyralide; 2,4-D; 2,4-DB; Fluroxypyr; Dicamba; Dichlorprop; Fenoprop; Flurenol; Ioxynil; Dinoterb; MCPA; MCPB; Mecoprop; Metsulfuro-méthyl; Picloram; Pyridate; 2,4,5-T; Quinmerac	Brut et filtré	EN ISO 11 369	0,05 µg/L **ou bien** 0,1 µg/L
	Malathion	Brut et filtré	GC/MS	0,5 µg/L
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques	Naphthalène; Acénaphthylène; Acénaphthène; Fluorène; Phénanthrène; Anthracène; Benzo(a)anthracène; Dibenzo(ah)anthracène; Fluoranthène; Benzo(b)fluoranthène; Benzo(k)fluoranthène; Pyrène; Benzo(a)pyrène; Indeno(123-cd)pyrène; Chrysène; Benzo(ghi)pérylène	Brut et filtré	ISO 17 993	0,02 µg/L
Polychlorobiphényles	PCB n° 28 PCB n° 52 PCB n° 101 PCB n° 118 PCB n° 138 PCB n° 153 PCB n° 180	Brut et filtré	NF ISO 6468	0,005 µg/L

Le flaconnage utilisé a été conditionné et fourni par les Laboratoires Wessling pour les paramètres dosés par ce laboratoire. Pour les paramètres dosés au LSE et/ou au LGCIE, le flaconnage utilisé a été

conditionné et fourni par le LSE. Le conditionnement spécifique des différents flacons utilisés était conforme aux exigences des normes relatives aux paramètres à doser.

Caractérisation des particules (MES) :

Le Tableau 22 présente les paramètres retenus pour caractériser les particules de l'échantillon de RUTP prélevé en France. Ces particules ont été récupérées par centrifugation (9300 tours/mn pendant 20 mn) suivie d'une filtration à 1,2 µm.

Tableau 22 : Paramètres de caractérisation des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon	Norme	LQ
Métaux	Cadmium (Cd)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn)	Particules minéralisées	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-112 (SAA-flamme)	100 µg/L
Autres	Matière Sèche (MS)	Particules	NF T 90-029	-
	Perte au feu	Particules	NF T 90-029	-

- **Concentration en métaux - Minéralisation :**

La teneur totale des éléments métalliques a été déterminée en procédant au préalable à une minéralisation par attaque acide à l'eau régale suivie d'un dosage par Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA). Le matériel utilisé (four à micro-ondes et spectromètre) et les méthodes dosage retenues sont les mêmes que ceux décrits précedemment pour caractériser l'échantillon brut.

La minéralisation par attaque acide est une technique qui permet de dissoudre les minéraux et la matière organique (MO) par oxydation. La méthode retenue est celle utilisant l'eau régale (2 mL d'HNO_3 suprapur et 6 mL d'HCl ultrapur), selon la norme ISO 11466 [1995]. Sastre *et al.* [2002] soulignent que cette méthode conduit à une excellente estimation des teneurs totales des métaux lourds. Il est à noter que l'eau régale ne minéralise pas les silicates ni les éléments éventuellement piégés dans ces minéraux, ce qui permet d'apprécier principalement les concentrations qui sont susceptibles d'être disponibles pour les organismes exposés à ces rejets.

Le cycle de minéralisation par four à micro-ondes de type CEM a été adapté de la norme NF EN ISO 15587-1 [2002]. Le programme utilisé est le suivant : montée à 180°C en 15 minutes puis stabilisation à 180°C pendant 30 minutes. Les solutions obtenues sont filtrées au moyen de filtres Whatman 541 avant analyse par absorption atomique.

- **Matière Sèche - Perte au feu :**

La Matière Sèche (MS) et la perte au feu ont été déterminées au laboratoire POLDEN et au LSE. Les mesures ont été réalisées selon la norme NF T 90-029 [1970]. La matière sèche est obtenue par évaporation à 100-105 °C de l'eau contenue dans l'échantillon. Elle est estimée au moyen de l'équation 11.

$$MS\ (\%) = \frac{M_s}{M_h} \times 100 \qquad \textbf{Equation 11}$$

où : MS = matière sèche, en %

M_h = masse de l'échantillon humide, en mg

M_s = masse de l'échantillon sec, en mg

La perte au feu (perte de masse par combustion) est estimée après calcination de la masse sèche (ou résidu sec) à 525°C $\pm$ 25 °C. Cette mesure permet d'évaluer la teneur en matière volatile (organique et certains sels minéraux) de l'échantillon. Elle est estimée au moyen de l'équation 12.

$$Perte\,au\ feu\ (g/g\ MS) = \frac{M_{MS} - M_{RC}}{M_{MS}} \qquad \textbf{Equation 12}$$

où : Perte au feu = en g/g MS

M_{MS} = masse sèche, en g

M_{RC} = masse résidu calciné, en g

Caractérisation d'échantillon préalablement congelé :

Le Tableau 23 présente les paramètres retenus pour caractériser une fraction préalablement congelée de l'échantillon de RUTP prélevé en France.

Tableau 23 : Analyses réalisées sur une fraction préalablement congelée de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge et soumise à des essais écotoxicologiques : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme / Protocole	LQ
Paramètres globaux	pH*	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	T (°C) *	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Conductivité*	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Potentiel redox*	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	DCO*	Brut et filtré à 1,2 µm	Test en tube C4/25 (WTW)	25-1500 mg/L
	COD**	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-102	-
	ortho-phosphates***	Brut et filtré à 1,2 µm	HACH, Méthode 8048	mg/L PO_4^{3-}
	Ammonium***	Brut et filtré à 1,2 µm	HACH, Méthode 8038	0,08 mg/L NH_4^+
Métaux	Cadmium (Cd) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn) ***	Filtré à 1,2 µm	NF T 90-112 (SAA-flamme)	100 µg/L

* Analyses réalisées à POLDEN ; ** Analyses réalisées au LGCIE ; *** Analyses réalisées au LSE

- **Paramètres globaux**

Le **pH**, la **température**, la **conductivité** et le **potentiel redox** sont mesurés au moyen d'un appareil Consort C831 équipé de sondes spécifiques à chacun de ces paramètres.

Les mesures de **DCO** sont effectuées par la méthode des tests en tubes à essai avec réactif, selon le guide de procédure du fournisseur, WTW. Elle est analogue aux méthodes suivantes : EPA 410.4, US Standard Methods 5220 D et ISO 15705 (dépliant du fournisseur : WTW). L'appareil de mesure utilisé est un Photolab S12.

La concentration en **Carbone Organique Dissous (COD)** en phase liquide est déterminée selon le protocole analytique de la norme NF T 90-102 [1985]. Cette analyse a été réalisée au LGCIE.

Les teneurs **d'ortho-phosphates** et **d'ammonium** ont été estimées par spectrophotométrie selon le protocole analytique HACH. L'appareil utilisé est un spectrophotomètre HACH DR/2010. Les mesures sont réalisées sur échantillon brut et sur échantillon filtré à 1,2 µm.

- Pour les **ortho-phosphates** la méthode utilisée est la méthode 8048 acceptée par l'USEPA pour l'analyse des eaux résiduaires. Cette analyse est réalisée au moyen de gélule de réactif PhosVer® 3. Les concentrations mesurées sont exprimées en mg PO_4^{3-} /L.
- Pour l'**ammonium (azote ammoniacal)** la méthode utilisée est la méthode de Nessler (méthode 8038) acceptée par l'USEPA pour l'analyse d'eau résiduaire. Les concentrations mesurées sont exprimées en mg NH_4^+/L.

- **Métaux :**

Les métaux sont dosés suivant les mêmes procédures présentées pour la caractérisation de l'échantillon « frais ». Ces analyses ont été réalisées au LSE.

III.4.2. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique est réalisée par diffraction laser sur la fraction particulaire de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, conservée par congélation. Ces analyses sont réalisées au LSE sur les tamisats à 1,6 mm de l'échantillon. L'appareil utilisé est un Mastersizer 2000 (gamme de mesure de 20 nm a 2 mm), avec le module de dispersion d'échantillons Hydro G (Malvern, Royaume Uni). Le choix de la coupure à 1,6 mm repose sur la volonté de protéger l'appareil contre toute éventuelle détériorarion qui pourrait être occasionnée par des éléments de dimension supérieure à cette valeur. Le dispersant utilisé est l'eau (indice de réfraction : 1,33 à 20°C).

Deux mesures ont été effectuées : la première, sur l'échantillon rajouté dans l'échantillonneur sans appliquer des ultrasons ; la seconde a été effectuée après activation de la sonde à ultrasons du module de dispersion pendant 1 minute (durée aléatoire) afin d'apprécier le niveau d'agrégation des particules.

Les résultats sont présentés sous la forme de courbes de fréquence. Cette forme de représentation facilite la visualitation du (des) maximum(s) relatif(s) de la courbe granulométrique. Ces maximums sont également dénommés modes granulométriques [Chamley, 2000] ; [Neto, 2007]. Deux courbes granulométriques sont présentées pour l'échantillon : celle pour la mesure réalisée sans les ultrasons (courbe rouge) ; celle pour la mesure après application des ultrasons (courbe bleue).

III.5. CARACTERISATION DES EFFETS ECOTOXICOLOGIQUES DE L'ECHANTILLON DE RUTP DU DO DU PONT DE LA BARGE

III.5.1. Approche retenue pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du DO

La mise en évidence des effets écotoxicologiques pour l'échantillon de RUTP prélevé au niveau du Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge a été réalisée au moyen de la batterie de bioessais

mono-spécifiques présentée dans le paragraphe II.2.3 (page 136) de la section II consacrée à la proposition méthodologique d'EDREcotox au moyen d'une approche *a priori*.

Notre batterie de bioessais mono-spécifiques est constituée d'essais normalisés couplés à certains essais non-normalisés mais adaptés à des interrogations scientifiques en rapport à la matrice testée. Les normes et protocoles utilisés ainsi que les organismes test pour les différents bioessais retenus ont déjà été présentés (paragraphe II.2.3, page 136). Les paragraphes qui suivent sont dédiés à la présentation des informations relatives au traitement de l'échantillon et à des détails spécifiques concernant la mise en œuvre de chaucn de ces essais pour l'échantillon de RUTP testé.

Cette campagne d'essais écotoxicologiques a été réalisée en février 2007, immédiatment après la campagne de prélèvements. En ce qui concerne les essais réalisés sur des fractions congelées de l'échantillon de RUTP, ces derniers ont été réalisés en octobre 2007, en même temps que les essais réalisés sur les échantillons d'Haïti. Les essais ont été mis en œuvre au laboratoire d'écotoxicologie de POLDEN et sur la base d'une collaboration avec Christine BAZIN.

III.5.2. Batterie de bioessais mono-spécifiques retenus pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

III.5.21. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

III.5.211. Inhibition de la mobilité de *D. magna* (Dm)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 6341 (T 90-301) [1996] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe I.3.31 (page 116).

L'essai a été mis en œuvre sur la phase liquide de l'échantillon de RUTP après une décantation de 2 heures. Un essai préliminaire a d'abord été réalisé pour chacun des échantillons, parallèlement à un témoin constitué de milieu daphnie. L'essai définitif a été mis en œuvre 24 heures après l'essai préliminaire. Une gamme de 4 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai pour l'échantillon de RUTP, parallèlement à un témoin.

L'essai d'inhibition de la mobilité de *D. magna* a également été mis en œuvre sur une fraction de l'échantillon de RUTP qui avait été congelée. L'échantillon a été décongelé en octobre 2007 puis homogénéisé manuellement (agitation par retournement) avant la réalisation de l'essai. L'essai a été mis en œuvre sur le surnageant après une décantation de 2 heures. La gamme testée était constituée de 4 dilutions réalisées dans des tubes à essai, en parallèle à un témoin.

III.5.212. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.2.2 (page 139).

L'essai a été mis en œuvre sur le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon de RUTP. Une gamme de 8 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à deux témoins ou blancs.

L'essai d'inhibition de la luminescence de *V. fischeri* a également été mis en œuvre sur du filtrat à 0,45 µm de l'échantillon de RUTP qui avait été congelé. L'échantillon a été décongelé en octobre 2007 puis homogénéisé manuellement (agitation par retournement) avant la réalisation de l'essai selon le même protocole utilisé en février 2007.

III.5.213. Inhibition de la croissance de l'algue *P. subcapitata* (Ps)

Cet essai a été réalisé d'après la norme française NF T 90-375 [1998] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.3.2 (page 141).

L'essai a été mis en œuvre sur le filtrat à 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. Trois dilutions ont été réalisées dans des tubes à essai, parallèlement à un témoin.

III.5.214. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard du « Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater » [MicroBioTests Inc., 2006] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144).

L'essai a été mis en œuvre sur le filtrat à 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. Une gamme de 4 dilutions a été réalisée dans les puits de la microplaque, parallèlement à un témoin.

L'essai *B. calyciflorus* (48 h) a également été mis en œuvre sur du filtrat à 1,2 µm de l'échantillon de RUTP qui avait été congelé. L'échantillon a été décongelé en octobre 2007 puis homogénéisé manuellement (agitation par retournement) avant la réalisation de l'essai. Une gamme de 5 dilutions a été réalisée dans les puits de la microplaque, parallèlement à un témoin.

III.5.215. Inhibition de la croissance de la population de *C. dubia* (Cdu) en 7 j

Cet essai a été réalisé d'après la norme française NF T 90-376 [2000] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.5.2 (page 145).

L'essai a été mis en œuvre sur le filtrat à 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. La gamme testée était constituée de 6 dilutions réalisées dans des tubes à essai, en parallèle à un témoin.

III.5.216. Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *D. magna* (Dm) en 21 j

Cet essai a été réalisé d'après la norme internationale ISO/FDIS 10706 [1999] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.6.2 (page 147).

L'essai a été mis en œuvre sur le filtrat à 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. Une gamme de 6 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à un témoin.

III.5.22. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

III.5.221. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0)

Cet essai a été réalisé d'après le protocole développé par AZUR Environmental [1998a]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.3.1.2 (page 148).

L'essai a été mis en œuvre sur les particules $\geq$ 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. Une gamme de 9 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à un témoin ou blanc.

III.5.222. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard de « Ostracodtoxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments » [MicroBioTests Inc., 2004]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.3.2.2 (page 151).

L'essai a été mis en œuvre sur les particules $\geq$ 1,2 µm de l'échantillon de RUTP. Six répliques ont été réalisées dans les puits d'une microplaque pour les particules de l'échantillon de RUTP, parallèlement à 6 répliques pour le témoin.

III.5.3. Synthèse de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour caractériser les effets de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge

Le Tableau 24 présente une synthèse de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour caractériser l'écotoxicité de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, prélevé à Grézieu-La-Varenne en France.

Tableau 24 : Bioessais mono-spécifiques mis en œuvre et préparation de l'échantillon de RUTP prélevé en France au niveau du DO du Pont de la Barge

Type d'exposition	Organisme test	Norme/Protocole	Critère d'effet mesuré (durée d'exposition)	Préparation de l'échantillon	Remarques
Aiguë	*Daphnia magna* (Dm)	NF EN ISO 6341 (T 90-301)	Mobilité (24 h et 48 h)	Décantation (2 h)	Echantillon frais Echantillon congelé
	Vibrio fischeri (Vf)	ISO 11348-3	Luminescence (30 mn)	Filtration à 0,45 µm	Echantillon frais Echantillon congelé
		Microtox® Basic Solid Phase Test avec I_0	Luminescence (20 mn)	Particules ≥ 1,2 µm récupérées par centrifugation et filtration	Echantillon frais
Chronique	*Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps)	NF T 90-375	Croissance de la population (72 h)	Filtration à 1,2 µm	Echantillon frais
	Brachionus calyciflorus (Bc)	Protocole RoToxkit™ F	Croissance de la population (48 h)	Filtration à 1,2 µm	Echantillon frais Echantillon congelé
	Ceriodaphnia dubia (Cdu)	NF T 90-376	Croissance de la population Reproduction (7 j)	Filtration à 1,2 µm	Echantillon frais
	Daphnia magna (Dm)	ISO/FDIS 10706	Croissance de la population Reproduction (21 j)	Filtration à 1,2 µm	Echantillon frais
	Heterocypris incongruens (Hi)	Protocole OstracodToxkit™ F	Mortalité Croissance des organismes (6 j)	Particules ≥ 1,2 µm récupérées par centrifugation et filtration	Echantillon frais

CARACTERISATION DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES EN HAITI DANS LA COMMUNE DE PORT-AU-PRINCE

RUTP DU CANAL BOIS-DE-CHENE

IV. CARACTERISATION DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES EN HAÏTI - CANAL BOIS-DE-CHENE (PORT-AU-PRINCE)

IV.1. INTRODUCTION

Cette section du document présente la démarche adoptée en vue de caractériser des échantillons de RUTP prélevés en Haïti. Pour faciliter la lecture du document, on a opté pour une présentation en détail de cette étape de caractérisation dans une section séparée au lieu de l'intégrer directement dans la méthodologie générale proposée pour évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans un milieu aquatique lotique.

La démarche adoptée en vue de réaliser la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP prélevés à Port-au-Prince (Haïti) est présentée dans les paragraphes suivants. Les résultats découlant de cette phase de caractérisation de l'échantillon seront par la suite utilisés en vue de procéder à l'évaluation des risques pour le scénario haïtien.

IV.2. PRESENTATION DU SITE DE PRELEVEMENT (EN HAÏTI)

Tel que spécifié dans le paragraphe II.2.111 (page 131), on a choisi de travailler sur un site à Port-au-Prince, la capitale de la République d'Haïti. Les prélèvements ont été effectués à deux endroits, le long du Canal Bois-de-Chêne qui draine ses rejets jusqu'à son exutoire final qui est la mer, au niveau de la Baie de Port-au-Prince. Même si les points de prélèvement choisis se situent dans la commune de Port-au-Prince, les bassins-versants drainés jusqu'aux points de prélèvement retenus se délimitent au-delà de cette seule commune.

Le paragraphe suivant présente de façon plus détaillée les principales caractéristiques du site d'étude retenu en Haïti.

IV.2.1. Présentation de la zone d'étude

Les informations présentées dans ce paragraphe sont essentiellement tirées de documents de projet élaborés par ou pour des institutions du gouvernement haïtien ([MTPTC, 1980] ; [Le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A., 1998]), de données acquises auprès du CNIGS [2007], des cartes topographiques de la République d'Haïti ([US Army, 1962]), de données transmises par des bureaux d'étude en Haïti, ou de communications personnelles avec des professionnels ou des consultants internationaux du secteur de l'eau et de l'assainissement en Haïti.

Sur la base des contraintes énumérées précédemment (voir paragraphe II.2.111, page 131), le Canal Bois-de-Chêne a été retenu pour procéder à l'application de la méthodologie d'EDREcotox proposée en vue de protéger les organismes vivant dans ce canal.

Ce canal de drainage des eaux pluviales a été conçu dans les années 80, dans l'optique de la mise en place d'un réseau séparatif pour la gestion des rejets de la ville de Port-au-Prince et de ses environs. Présentement, ce canal draine tous les effluents de son bassin-versant (eaux usées et eaux pluviales). Le Canal Bois-de-Chêne n'est aménagé que sur un tronçon : de la prolongation de la Rue Légitime

jusqu'à la mer ; la partie non-aménagée porte le nom de Ravine Bois-de-Chêne. Ces deux tronçons sont représentés sur la **Figure 25** : en jaune, le tronçon aménagé et en magenta, la Ravine Bois-de-Chêne.

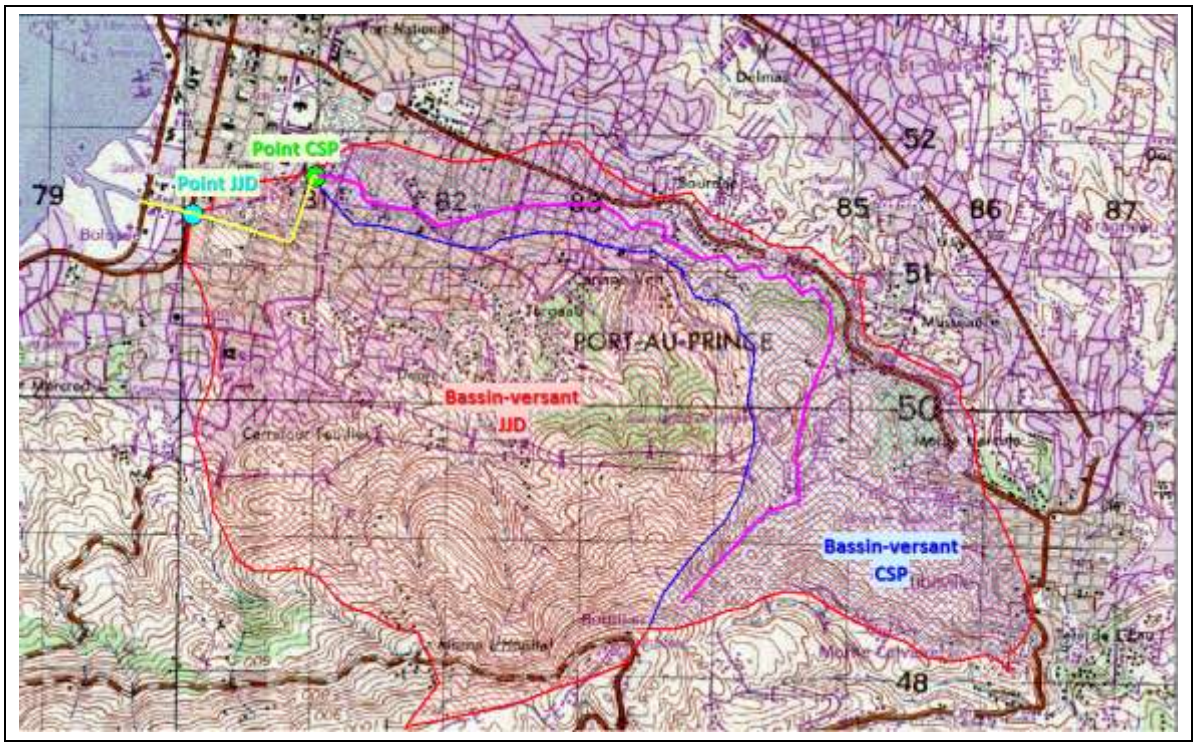


Figure 25 : **Bassin-versant du Canal Bois-de-Chêne pour les points de prélèvement considérés**

Le bassin-versant (BV) de la Ravine et du Canal Bois-de-Chêne part de la Commune de Pétion-Ville (dans les pieds-monts du Morne[1] de l'Hôpital), située au haut de la Commune de Port-au-Prince. Son point culminant se situe autour de 1000 m d'altitude. Au niveau de la partie amont de ce BV (entre les côtes 500 et 1000 m), la pente atteint 50 à 60% pour passer à 20% entre les côtes 200 et 500 m. La partie aval de ce bassin-versant présente des pentes comprises entre 0% au niveau de son exutoire final et 2% à proximité du point JJD.

Dans le cadre de cette étude, deux points de prélèvement ont été retenus le long du parcours du Canal Bois-de-Chêne : les points CSP et JJD. Les caractéristiques de chacun de ces points sont présentés dans le paragraphe IV.3.11 (page 180). Un bassin-versant est associé à chacun de ces points de prélèvement ; ces deux bassins-versants (BV CSP et BV JJD) ont été délimités au moyen du fond de plan topographique ([US Army, 1962]) de la zone d'étude et sont présentés au moyen de la **Figure 25**. Sur la base de cette délimitation, les superficies de ces bassins-versants ont été estimées à 6,6 km² pour le BV CSP et à 18,4 km² pour le BV JJD. On remaquera que le BV CSP est une partie intègrante du BV JJD.

[1] Morne : terme utilisé aux Antilles pour désigner une colline.

Les données figurant dans l'étude préliminaire ([MTPTC, 1980]) font état d'une pluviométrie moyenne de 1360 mm/an sur le Centre de la Ville de Port-au-Prince, avec une variation sensible en fonction de l'altitude (2000 mm/an dans les hauteurs au-dessus de Kenscoff et 1000 mm/an au niveau de la Plaine du Cul-de-Sac). Actuellement, le suivi de la pluviométrie n'est assuré que très partiellement au niveau de la Région Métropolitaine de Port-au-Prince (RMPP), car la majeure partie des pluviomètres qui y étaient installés ne sont pratiquement plus en fonctionnement.

Les données géomorphologiques [CNIGS, 2007] sur les deux bassins-versants délimités indiquent que :

- le BV CSP est constitué (d'amont en aval) de : massifs rocheux résiduels (*mornes clacaires généralement karstifiés*), montagnes basses et collines intermédiaires (*roches sédimentaires de lithologie mixte*), et d'autres couvertures détritiques constituant des plaines uniformes ;
- le BV JJD est constitué (d'amont en aval) de : couvertures détritiques (*cones de déjections et glacis d'accumulation souvents disséqués*), massifs rocheux résiduels (*mornes clacaires généralement karstifiés*), montagnes basses et collines intermédiaires (*roches sédimentaires de lithologie mixte*), et d'autres couvertures détritiques constituant des plaines uniformes.

Il n'existe pas de carte actualisée de l'érosion des sols permettant d'apprécier l'état de la situation. Néanmoins, sur la base des données de la carte de l'érosion établie en 1998 [CNIGS, 2007], on a pu constater, qu'à cette époque :

- la partie aval du BV CSP était moyennement érodée pour atteindre un niveau très gravement érodé dans une zone se stiuant au centre de ce BV. Sinon, sa partie amont présentait un niveau d'érosion allant d'élevé à grave ;
- en ce qui concerne le BV JJD, sa partie aval était très faiblement érodée pour atteindre un niveau très gravement érodé dans une zone se stiuant pratiquement au centre de ce BV. Sa partie amont présentait un niveau d'érosion allant de élevé à grave, en passant par un état moyennement érodé au niveau de la bande centrale de ce BV.

En termes d'occupation des sols, sur la base des données de 1998 [CNIGS, 2007] :

- la partie aval du BV CSP ainsi qu'une faible portion de la partie amont de ce BV était définie comme de l'urbain continu. La partie amont du BV CSP jusqu'à sa partie centrale était des savanes avec des zones où se pratiquaient d'autres formes d'activités ;
- pour le BV JJD, sa partie aval était également définie comme de l'urbain continu. Une portion de sa partie centrale était définie comme de l'urbain discontinu. La dernière portion, se situant entre la partie amont de ce BV et sa partie centrale, était des savanes avec des zones où se pratiquaient d'autres formes d'activités.

Les données relatives à la potentialité agricole remontent à 1982 [CNIGS, 2007]. Ces données précisent qu'à cette période :

- la partie aval du BV CSP ainsi qu'une faible portion de la partie centrale ce BV était définie comme zone urbaine. A partir du centre, on rencontre des zones présentant de faibles potentialités agricoles et qui peuvent même être qualifiées de limitées quand on se rapproche de la partie

amont du BV CSP. En ce qui concerne la partie amont de ce BV, les sols constituant cette zone présentent des potentialités agricoles très limitées ;

- la même distribution observée en termes de potentialités agricoles des sols du BV CSP s'applique également au BV JJD.

En ce qui concerne la densité de l'habitat au sein de ces 2 bassins-versants, les données transmises par le CNIGS [2007] remontent à l'année 2002. Elles nous permettent de constater que :

- la partie aval du BV CSP ainsi qu'une faible portion de la partie amont de ce BV présente une densité de l'habitat allant d'élevée à extrêmement élevée. En ce qui concerne la partie amont du BV CSP elle est globalement caractérisée par une densité de l'habitat variant de nulle ou très faible à une densité de l'habitat qualifiée de moyenne ;
- les observations faites pour le BV CSP s'appliquent également au BV JJD, en termes de distribution de la densité de l'habitat au sein de ce bassin-versant.

Globalement, la situation générale du pays s'est détériorée durant ces dernières décennies et ceci sur bien des plans (économique, stabilité politique, …). De ce fait, parmi les principaux impacts qui en découlent, surtout au niveau de la RMPP, figurent : une augmentation du déboisement (le bois constituant l'une des principales source énergétique utilisées dans le pays), une augmentation de la migration de la campagne vers la ville, une augmentation des surfaces bâties, une augmentation des zones à fortes densités d'habitats, … Par ailleurs, l'Etat Haïtien peine à assurer un taux de couverture minimal satisfaisant en termes de services de base (assainissement, alimentation en eau potable, collecte des déchets solides, …).

IV.3. CAMPAGNE DE PRELEVEMENTS

La campagne de prélèvements a été réalisée au début du mois de septembre 2007, suite à l'événement pluvieux de la soirée du 04 septembre 2007. Le mois de septembre est l'un des mois les plus pluvieux d'Haïti. Il succède à une période globalement sèche, allant de juin à août.

La pluie d'orage tropical du 04 septembre 2007 a été le premier événement pluvieux de grande importance enregistré à la fin de la période sèche.

IV.3.11. Points de prélèvement

Deux points de prélèvement ont été sélectionnés le long de ce réseau de drainage : un premier point (CSP) au niveau du dégraveur[2] installé en tête du canal ; un second point (JJD) à l'angle du Boulevard Jean-Jacques Dessalines et de la Rue Déhoux. Chacun de ces points constitue l'exutoire d'un bassin-versant (BV CSP et BV JJD ; voir le paragraphe IV.2.1 et la **Figure 25**).

[2] Dégraveur : dispositif destiné à retenir le gravier transporté par l'eau. Le dégraveur se trouvant à cet endroit est d'une capacité minimale de l'ordre de 1845 m^3 et une capacité maximale de 2115 m^3.

Dans le cadre d'une étude réalisée par Mompoint et Théléys [2004] et portant sur l'évaluation sommaire des dangers écologiques générés par les effluents liquides urbains (drainés par ce canal) sur l'écosystème de la Baie de Port-au-Prince, 8 points de prélèvement ont été investigués le long du Canal Bois-de-Chêne. Les points CSP et JJD figurent parmi ces 8 points (ils correspondent respectivement aux points P1 et P7) ; ils ont été retenus en raison de leur facilité d'accès mais également en vue de voir s'il est possible de mettre en évidence une différence nette entre les échantillons prélevés au niveau de ces deux points, sur la base de la taille de leur bassin-versant respectif.

Si on se base sur le sens de l'écoulement des rejets dans ce canal et sur la position géographique de chacun de ces deux points de prélèvement, ils peuvent être présentés de la manière suivante :

- **le point CSP** : il se situe sur le prolongement de la Rue Légitime, derrière le Collège Saint-Pierre. Ce point peut être considéré comme un **point amont**, puisqu'il se situe en tête du Canal Bois-de-Chêne. L'altitude approximative du point CSP se situe autour de 25 m ;
- **le point JJD** : ce point de prélèvement se situe au niveau du dalot aménagé à l'angle du Boulevard Jean-Jacques Dessalines et de la Rue Déhoux. Il peut être qualifié de **point aval** par rapport au point CSP. L'altitude approximative du point JJD se situe entre 5 et 10 m.

IV.3.12. Prélèvement, conditionnement et préparation de l'échantillon de RUTP

Les prélèvements ont étés réalisés de l'aval (JJD) vers l'amont (CSP). L'échantillon de RUTP prélevé au niveau du point JJD correspond aux premiers écoulements de cet événement pluvieux qui soient passés par le point JJD.

Les 2 échantillons (JJD et CSP) ont été récupérés par prélèvements à répétition au moyen d'un seau en polyéthylène, puis versés dans deux fûts de 30 L également en polyéthylène. Pour chacun des points de prélèvement, il a fallu une dizaine de minutes pour récupérer un volume approximatif de 20 L d'échantillon. Les 2 prélèvements ont été réalisés sur une péride de 30 minutes.

Dans un délai de 10 heures, les échantillons de RUTP ont été ramenés au laboratoire. Dès notre arrivée au laboratoire on a procédé à une homogénéisation manuelle des échantillons (par brassage), avant de séparer chaque échantillon de RUTP en fonction des volumes nécessaires à la caractérisation physico-chimique et à la caractérisation écotoxicologique de ces 2 échantillons prélevés au niveau du Canal Bois-de-Chêne. Les portions destinées a la réalisation d'analyses et d'essais en France ont immédiatement été congelées. Les portions destinées au dosage des métaux ont été préalablement acidifiées avant d'être congelées. Les portions destinées à la réalisation d'analyses et d'essais en Haïti ont été conservées à 4 °C tout au long de la réalisation de cette phase de caractérisation à l'Unité d'Ecotoxicologie Tropicale (UnET).

IV.4. CARACTERISATION DES ECHANTILLONS DE RUTP DU CANAL BOIS-DE-CHENE

IV.4.1. Caractérisation physico-chimique

Les paramètres retenus pour la caractérisation physico-chimique des échantillons de RUTP prélevés en Haïti ont été dosés soit à l'UnET (LAQUE - Haïti), soit au LSE de l'ENTPE, soit au LGCIE ou à POLDEN. Cette diversification est essentiellement fonction des paramètres retenus, des fractions concernées (brute, filtrée, ou les particules) et de la capacité analytique de ces différents laboratoires. La batterie minimale d'analyses physico-chimiques qui a été définie pour caractériser les échantillons de RUTP d'Haïti est présentée dans le Tableau 25. Les protocoles utilisés sont les mêmes que ceux présentés pour la caractérisation de l'échantillon de RUTP prélevé en France (voir paragraphe III.4.1 à la page 162).

Globalement, les analyses ont été réalisées sur des échantillons préalablement congelés pour tous les paramètres que nous n'étions pas en mesure de doser en Haïti. Les analyses de métaux ont été réalisées au LSE de l'ENTPE et au LGCIE de l'INSA de Lyon.

Caractérisation des échantillons « frais » (brut et filtré) :

Le prélèvement ayant été réalisé la nuit (couplé à des questions de sécurité), aucune mesure *in situ* n'a pu être réalisée. Cependant, dès l'arrivée de l'échantillon à l'UnET au LAQUE, nous avons procédé à des mesures de : pH, température, et conductivité sur l'échantillon brut. Ces mesures ont été réalisées au moyen : d'un pH/mV/Temp Meter (OAKTON™ W-35615-Series) pour le pH et la température ; et d'un TDS/Conductivity/Temperature Meter (OAKTON™ WD-35607-20) pour la conductivité.

Sur l'échantillon filtré à 1,2 µm, on a procédé à des mesures de pH et de température. La conductivité n'a pas pu être mesurée pour l'échantillon filtré suite à une panne au niveau de la sonde de l'appareil.

Caractérisation d'échantillons préalablement congelés :

La caractérisation physico-chimique des échantillons préalablement congelés a été réalisée en France. Le Tableau 25 fournit des indications sur les paramètres retenus et les protocoles utilisés pour caractériser les échantillons de RUTP prélevés en Haïti ainsi que les laboratoires où ces analyses sont réalisées. Ces paramètres sont dosés dans les échantillons bruts (eau chargées en MES) et/ou la fraction filtrée de ces échantillons.

Tableau 25 : Caractérisation physico-chimique des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme	LQ
Paramètres globaux	pH*	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	T (°C) *	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Conductivité*	Brut et Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Potentiel redox*	Filtré à 1,2 µm	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	MES***	Brut	NF EN 872	2 mg/L
	DCO*	Brut et filtré à 1,2 µm	Test en tube C4/25 (WTW)	25-1500 mg/L
	COD**	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-102	-
	ortho-phosphates***	Brut et filtré à 1,2 µm	HACH, Méthode 8048	mg/L PO_4^{3-}
	Ammonium***	Brut et filtré à 1,2 µm	HACH, Méthode 8038	0,08 mg/L NH_4^+
Métaux	Cadmium (Cd)***	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr)***	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu)***	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni)***	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb)**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn)** et ***	Brut et filtré	NF T 90-112 (SAA-flamme) : brut EN ISO 11 885 (ICP-AES) : filtré	100 µg/L 1 µg/L
Autres	Matière Sèche (MS) *	Particules	NF T 90-029	-
	Perte au feu*	Particules	NF T 90-029	-

* Analyses réalisées à POLDEN ; ** Analyses réalisées au LGCIE ; *** Analyses réalisées au LSE
Le dosage des métaux pour l'échantillon brut a été réalisé suite à la minéralisation de ce dernier

IV.4.11. Paramètres globaux

Le **pH**, la **température**, la **conductivité** et le **potentiel redox** sont mesurés au moyen d'un appareil Consort C831 équipé de sondes spécifiques à chacun de ces paramètres.

Les mesures de **DCO** sont effectuées par la méthode des tests en tubes à essai avec réactif, selon le guide de procédure du fournisseur, WTW. La méthode utilisée a été présentée au paragraphe III.4.1 (page 162).

Les concentrations en **Carbone Organique Dissous (COD)** en phase liquide sont déterminées selon le protocole analytique de la norme NF T 90-102 [1985]. Ces analyses ont été réalisées au LGCIE.

Les concentratrions en **ortho-phosphates** (exprimés en mg PO_4^{3-}/L) et en **ammonium** (exprimées en mg NH_4^+/L) ont été estimées par spectrophotométrie selon le protocole analytique HACH décrit au paragraphe III.4.1 (page 162).

IV.4.12. Matières En Suspension (MES)

La concentration en MES des 2 échantillons prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne est déterminée par filtration, selon la norme NF EN 872 [1996]. Les filtres utilisés sont des filtres en microfibres de verre (GF/C de Whatman de diamètre 25 mm ou 47 mm) de porosité estimée à 1,2 µm. Ces derniers sont préalablement séchés pendant 24h à 105 °C puis pesés. L'échantillon à analyser est filtré à travers ces filtres qui sont ensuite remis à sécher à 105 °C, pendant 24h. La mesure est effectuée par différence de masse du filtre après et avant filtration.

$$MES_{(mg/L)} = \frac{M_f - M_i}{V} \times 1000 \qquad \textbf{Equation 13}$$

où : MES = concentration en matière en suspension, en mg/L

M_i = masse filtre avant filtration, en mg

M_f = masse filtre après filtration, en mg

V = Volume filtré, en mL

IV.4.13. Métaux :

Les métaux sont dosés suivant les mêmes procédures présentées pour la caractérisation de l'échantillon de RUTP prélevé en France (voir paragraphe III.4.1, page 162).

En ce qui concerne les particules, les concentrations en éléments métalliques ont été estimées en faisant la différence entre les concentrations pour les fractions brutes et filtrées. Ces concentrations ont été exprimées en g/kg de MS) en prenant en compte la concentration en MES et la siccité de chacun de ces échantillons.

IV.4.14. Matière Sèche - Perte au feu

La Matière Sèche (MS) et la perte au feu ont été déterminées au laboratoire POLDEN et au LSE. Les mesures ont été réalisées selon la norme NF T 90-029 [1970]. Les protocoles ont été présentés au paragraphe III.4.1 (page 162).

IV.4.2. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique a été réalisée par diffraction laser sur la fraction particulaire < 1,6 mm des 2 échantillons prélevés en Haïti (CSP et JJD), selon le principe présenté au paragraphe III.4.2 de la page 170. Pour récupérer ces particules, l'échantillon brut a été centrifugé puis filtré à 1,2 µm. La

centrifugation a été réalisée à 9000 tours/mn pendant 20 mn ; le nombre de tours a été fixé en fonction des caractéristiques de la centrifugeuse utilisée en Haïti.

Les résultats de l'analyse granulométrique par diffraction laser réalisée au LSE de l'ENTPE sont présentés sous la forme de courbes de fréquence (courbe rouge : sans ultrasons, courbe bleue : après ultrasons), dans la partie « Résultats » du document (voir paragraphe III.1.3, page 283).

IV.5. CARACTERISATION DES EFFETS ECOTOXICOLOGIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES DANS LE CANAL BOIS-DE-CHENE

IV.5.1. Approche retenue pour caractériser les effets des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

La caractérisation des effets écotoxicologiques des 2 échantillons prélevés en Haïti a été réalisée au moyen d'une batterie simplifiée de bioessais. Les essais retenus ont été sélectionnés sur la base de deux critères principaux :

- accorder la priorité à des organismes que l'on retrouve dans le commerce sous forme lyophilisée ou de sporocystes : la non-disponibilité au sein de l'Unité d'Ecotoxicologie Tropicale (l'UnET) du LAQUE de l'ensemble des organismes (ou de leur équivalant) constituant la batterie complète de bioessais dans le cadre de la méthodologie d'EDREcotox proposée (voir paragraphe II.2.3, page 136) a été à la base de ce choix. Certains organismes de la batterie complète sont des organismes de milieu tempéré, qui exigent des conditions d'élevages spécifiques (température, …). Or, l'UnET est une jeune unité d'écotoxicologie qui est en train de se mettre en place en Haïti et elle ne dispose pas encore de toutes les capacités adéquates au maintien de ces élevages ;
- prioriser des essais qui ne nécessitent pas l'utilisation d'importants volumes d'échantillon pour leur réalisation : ce deuxième choix respose essentillement sur la décision de mettre en œuvre la même batterie simplifiée de bioessais sur des échantillons de RUTP d'Haïti ramenés en France. De ce fait, la contrainte de volume constitue un handicap majeur à la mise en œuvre de biessais tel l'essai *C. dubia* 7j ou *D. magna* 21j.

En couplant ces deux approches complémentaires (mise en oeuvre d'essais en Haïti et en France) on espère, dans un premier temps, pouvoir disposer de données tant sur les échantillons frais que sur les échantillons congelés ; la congélation ayant été retenue comme mode de conservation des échantillons avant la mise en œuvre des essais en France, car elle permet de limiter l'évolution biochimique des échantillons. Dans un second temps, on espère également valider la capacité de réaliser les essais retenus à l'UnET en Haïti.

Notre batterie simplifiée de bioessais mono-spécifiques est constituée d'essais normalisés couplés à certains essais non-normalisés mais adaptés à des interrogations scientifiques en rapport à la matrice testée. Les normes et protocoles utilisés ainsi que les organismes tests pour les différents bioessais retenus ont déjà été présentés (paragraphe II.2.3, page 136).

IV.5.2. Batterie simplifiée de bioessais retenue et mise en œuvre en Haïti afin de caractériser les effets des échantillons du Canal Bois-de-Chêne

La batterie de bioessais mono-spécifiques retenue pour une mise en œuvre en Haïti est constituée d'une sélection d'essais normalisés et non-normalisés de la batterie complète de bioessais qui est proposée au paragraphe II.2.3 (page 136). Les paragraphes qui suivent sont dédiés à la présentation des informations relatives au traitement des échantillons et à des détails spécifiques concernant la mise en œuvre de chacun de ces essais pour les échantillons de RUTP testés.

Cette campagne d'essais écotoxicologiques a été mise en route en septembre 2007, immédiatement après la campagne de prélèvements. Les essais réalisés en Haïti ont été mis en œuvre à l'UnET du LAQUE avec le concours d'une équipe technique consituée de M. C. Joëlle FONTILUS, Edwine TANIS et Elmyre CLERVIL.

IV.5.21. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

IV.5.211. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf)

Le protocole retenu est celui de la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Ce protocole a été présenté au paragraphe II.2.3.2.2.2 (page 139).

Suite à un problème technique lié à l'alimentation électrique de l'appareil, cet essai initialement prévu n'a pas pu être réalisé. Par conséquent, aucun résultat ne peut être présenté pour cet essai dans le cadre des expérimentations réalisées en Haïti.

IV.5.212. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard du « Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater » [MicroBioTests Inc., 2006] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144).

L'essai a été mis en œuvre sur les filtrats à 1,2 µm des échantillons de RUTP (CSP et JJD) prélevés en Haïti. Pour chacun des échantillons, une gamme (identique) de 5 dilutions a été réalisée dans les puits des microplaques, parallèlement à un témoin.

IV.5.22. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

IV.5.221. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0)

Le protocole retenu est celui du fournisseur (AZUR Environmental, [1998a]). Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Ce protocole a été présenté au paragraphe II.2.3.3.1.2 (page 148).

L'essai porte sur les particules $\geq$ 1,2 µm des 2 échantillons de RUTP (CSP et JJD) prélevés en Haïti. Seuls les essais préliminaires ont pu être réalisés pour chacun des échantillons. En effet, suite à un problème technique lié à l'alimentation électrique de l'appareil, les essais définitifs n'ont pas pu être réalisés. Par conséquent, aucun résultat ne peut être présenté pour cet essai dans le cadre des expérimentations réalisées en Haïti.

IV.5.222. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard de « Ostracodtoxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments » [MicroBioTests Inc., 2004]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.3.2.2 (page 151).

L'essai a été mis en œuvre sur les particules $\geq$ 1,2 µm des échantillons de RUTP. Six répliques ont été réalisées dans les puits des microplaques pour les particules de chaque échantillon de RUTP, parallèlement à 6 répliques pour le témoin.

IV.5.3. Batterie simplifiée de bioessais retenue et mise en œuvre <u>en France</u> afin de caractériser les effets des échantillons du Canal Bois-de-Chêne

La batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre en France est identique à celle retenue pour une mise en œuvre en Haïti, à laquelle on a rajouté l'esai d'inhibition de la mobilité de *D. magna*. Les paragraphes qui suivent sont dédiés à la présentation des informations relatives au traitement des échantillons et à des détails spécifiques concernant la mise en œuvre de chacun de ces essais pour les échantillons de RUTP testés.

Cette campagne d'essais écotoxicologiques a été réalisée en octobre 2007. Les essais ont été mis en œuvre au laboratoire POLDEN et sur la base d'une collaboration avec Christine BAZIN.

IV.5.31. Bioessais normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

IV.5.311. Inhibition de la mobilité de *D. magna* (Dm)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 6341 (T 90-301) [1996] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe I.3.31 (page 116).

L'essai a été mis en œuvre sur la phase liquide des échantillons de RUTP (CSP et JJD) après leur décongélation suivie d'une homogénéisation manuelle (agitation par retournement). Par la suite, les échantillons ont été décantés pendant 2 heures.

Un essai préliminaire a d'abord été réalisé pour chacun des échantillons, parallèlement à un témoin constitué de milieu daphnie. L'essai définitif a été mis en œuvre 24 heures après l'essai préliminaire. Pour chacun des échantillons, une gamme (identique) de 4 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à un témoin.

IV.5.312. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.2.2 (page 139).

L'essai a été mis en œuvre sur les filtrats à 0,45 µm des échantillons de RUTP (CSP et JJD) après leur décongélation suivie d'une homogénéisation manuelle (agitation par retournement). Pour chacun des échantillons, une gamme (identique) de 8 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à deux témoins (ou blancs).

IV.5.313. Rotoxkit™ F – Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard du « Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater » [MicroBioTests Inc., 2006] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144).

L'essai a été mis en œuvre sur les filtrats à 1,2 µm des échantillons de RUTP (CSP et JJD) après leur décongélation suivie d'une homogénéisation manuelle (agitation par retournement). Pour chacun des échantillons, une gamme (identique) de 5 dilutions a été réalisée dans les puits des microplaques, parallèlement à un témoin.

IV.5.32. Bioessais non-normalisés retenus et protocole de mise en œuvre

IV.5.321. Inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf) réalisée sur Phase Solide (avec I_0)

Cet essai a été réalisé d'après le protocole développé par AZUR Environmental [1998a]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.3.1.2 (page 148).

L'essai a été mis en œuvre sur les particules $\geq 1{,}2$ µm des 2 échantillons de RUTP (CSP et JJD) prélevés en Haïti. Les particules ont été décongelées puis homogénéisées manuellement. Pour chacun des échantillons, une gamme de 8 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à deux témoins (ou blancs).

IV.5.322. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard de « Ostracodtoxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments » [MicroBioTests Inc., 2004]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.3.2.2 (page 151).

L'essai a été mis en œuvre sur les particules $\geq 1{,}2$ µm des 2 échantillons de RUTP (CSP et JJD) prélevés en Haïti. Les particules ont été décongelées puis homogénéisées manuellement. Six répliques ont été réalisées dans les puits des microplaques pour les particules de chaque échantillon de RUTP, parallèlement à 6 répliques pour le témoin.

IV.5.4. Synthèse de la batterie simplifiée de bioessais mono-spécifiques sélectionnés pour la caractérisation des effets des échantillons prélevés en Haïti

Le Tableau 26 présente une synthèse de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour caractériser les échantillons de RUTP prélevés en Haïti, au niveau du Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince.

Tableau 26 : Bioessais mono-spécifiques mis en œuvre et préparation des échantillons de RUTP prélevés en Haïti dans le Canal Bois-de-Chêne

Type d'exposition	Organisme test	Norme/Protocole	Critère d'effet mesuré (durée d'exposition)	Préparation de l'échantillon	Remarques
Aiguë	*Daphnia magna* (Dm)	NF EN ISO 6341 (T 90-301)	Mobilité (24 h et 48 h)	Décantation (2 h)	Ech. congelé (essai réalisé en France)
	Vibrio fischeri (Vf)	ISO 11348-3	Luminescence (30 mn)	Filtration à 0,45 µm	Ech. congelé (essai réalisé en France)
		Microtox® Basic Solid Phase Test avec I_0	Luminescence (20 mn)	Particules ≥ 1,2 µm récupérées par centrifugation et filtration	Ech. frais (préliminaire réalisé en Haïti) Ech. congelé (essai réalisé en France)
Chronique	*Brachionus calyciflorus* (Bc)	Protocole RoToxkit™ F	Croissance de la population (48 h)	Filtration à 1,2 µm	Ech. frais (essai réalisé en Haïti) Ech. congelé (essai réalisé en France)
	Heterocypris incongruens (Hi)	Protocole OstracodToxkit™ F	Mortalité Croissance des organismes (6 j)	Particules ≥ 1,2 mm récupérées par centrifugation et filtration	Ech. frais (essai réalisé en Haïti) Ech. congelé (essai réalisé en France)

PROPOSITION D'UNE METHODOLOGIE D'EDREcotox POUR LE COURS D'EAU DU SCENARIO FRANÇAIS AU MOYEN D'ESSAIS D'ECOTOXICITE EN LABORATOIRE

APPROCHE *A POSTERIORI*

V. PROPOSITION D'UNE METHODOLOGIE D'EDRECOTOX POUR LE COURS D'EAU DU SCENARIO FRANÇAIS AU MOYEN D'ESSAIS EN LABORATOIRE - *APPROCHE A POSTERIORI*

V.1. INTRODUCTION

Cette section du document présente une propostion d'approche méthodologique pour évaluer les risques écotoxicologiques pour une rivière péri-urbaine soumise au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP)[1]. Cette approche méthodologique repose essentiellement sur la comparaison de deux sections de la rivière : en **amont** du point de déversement des RUTP (le DO), et en **aval** de ce même point de déversement. Elle se base sur la caractérisation de chacune de ces sections (amont et aval de l'exutoire) tant sur le plan physico-chimique, au moyen de paramètres sélectionnés, que sur le plan écotoxicologique, par la réalisation de bioessais en laboratoire.

Cette approche méthodologique s'inscrit dans le cadre d'une démarche *a posteriori*. Elle sera développée en prenant comme modèle la rivière péri-urbaine du scénario français, la rivière Chaudanne, qui est sujette au déversement de RUTP. Les paragraphes suivants présentent le scénario étudié ainsi que les différentes étapes de l'approche *a posteriori*.

V.2. PRESENTATION DU PROBLEME

Le problème identifié dans le cadre du scénario autour duquel cette méthodologie d'EDREcotox, reposant sur une approche *a posteriori*, est élaborée peut-être formulé au moyen de l'hypothèse suivante :

Le déversement direct, à répétition, de RUTP du DO du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne peut conduire à une altération du bon fonctionnement de cette rivière, en affectant l'eau de surface et plus particulièrement les compartiments benthique et hyporhéique de la rivière Chaudanne. Les impacts négatifs découlant de ces déversements peuvent de ce fait fragiliser le compartiment hyporhéique du cours d'eau qui constitue une zone de refuge pour les organismes de cette rivière, surtout en période d'étiage sévère.

Les approches retenues pour la vérification de cette hypothèse sont présentées dans les paragraphes suivants, à la suite de la présentation des principaux éléments constitutifs du scénario étudié. Précisons que dans le cadre de cette étude, les expositions indirectes via la chaîne trophique n'ont pas été prises en compte dans cette première version de méthodologie.

V.3. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DE LA RIVIERE CHOISIE

La rivière Chaudanne a une longueur totale de 3,8 km, de la source à la confluence entre la Chaudanne et l'Yzeron. Elle a fait l'objet de plusieurs études, depuis la fin des années 90, se

[1] Pour le scénario étudié, les RUTP du DO du Pont de la Barge proviennent d'un réseau unitaire qui rejette, en cas de surcharge du réseau, au moment de fortes pluies, des eaux de pluie et des eaux usées essentiellement d'activités domestiques.

focalisant sur différentes problématiques (hydrologique, géomorphologique, qualité du milieu, etc.) et différents tronçons de la rivière. De 1998 à 2005, 5 stations ont été étudiées sur la rivière Chaudanne [Vivier, 2006]. Elles sont représentées sur la **Figure 26** qui constitue une vue d'ensemble de la zone[2]. Un point principal de déversement est identifié le long de cette rivière : le déversoir d'orage DO.

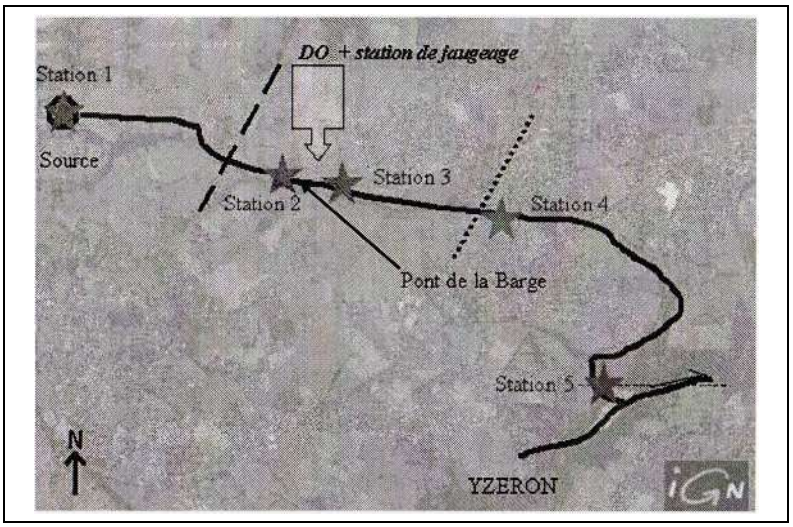


Figure 26 : **Plan de situation des stations d'étude du CEMAGREF de Lyon (Image tirée de [Vivier, 2006] et retouchée par Angerville)**

Dans le cadre de cette étude, trois de ces stations nous ont été recommandées par le CEMAGREF de Lyon pour le développement de notre approche méthodologique d'évaluation des risques *a posteriori*. Il s'agit des stations 2 (S2), 3 (S3) et 4 (S4). Cette approche méthodologique vise à mettre en évidence la contribution des apports en polluants du déversoir d'orage (DO) à la détérioration de la qualité de ce cours d'eau en utilisant des analyses et essais en laboratoire.

De manière générale, le lit de la rivière est composé de galets, de graviers et de sable pour les 5 stations d'étude. La Chaudanne est un cours d'eau qui peut s'assécher pendant plusieurs mois, principalement pendant la période estivale. Notre campagne de prélèvements a été programmée pendant une période où la rivière est en eau. Cette campagne a été réalisée le 15 février 2008.

V.4. DONNEES PLUVIOMETRIQUE ET DE DEBIT SUR UNE PERIODE ENCADRANT LA DATE DE LA CAMPAGNE DE PRELEVEMENTS

Les données relatives à la pluviométrie, au débit dans la rivière et pour le DO sont présentées pour une période de 2 mois, incluant la date à laquelle notre campagne de prélèvements a été réalisée (**Figure 27**).

[2] Il existe également un certain nombre de rejets ponctuels ou diffus, de faibles débits, en amont et en aval de ce point principal.

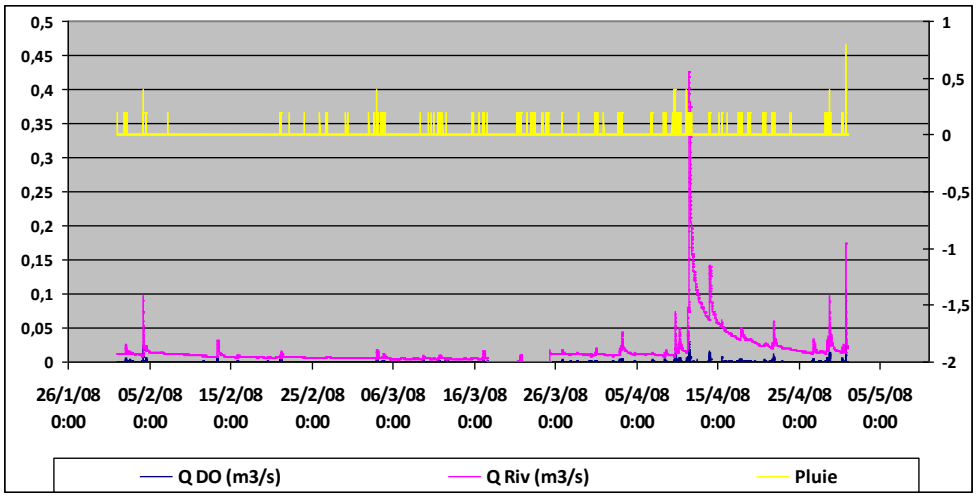


Figure 27 : **Données pluviométrique et de débits (rivière Chaudanne et DO) pour la période allant du 01/02/2008 au 30/04/2008 (source : CEMAGREF de Lyon)**

D'une manière générale, pour la période allant du 01/02/2008 au 15/02/2008, il y a eu quelques événements pluvieux (entre le 1er et le 2 février, et entre le 04 et le 07 février) suivis d'une période sans pluie allant 08 au 20 février 2008. Il n'y a pas eu d'apports significatifs du déversoir d'orage (DO)[3]. Le débit de la rivière était presque constant sur cette période, à l'exception des pics observés les 04 et 13 février 2008. En ce qui concerne le débit moyen de la rivière pour la journée du 15 février 2008, il est estimé à 0,009 m^3/s (9 L/s).

Du 21/02/2008 au 30/04/2008, on observe que :

- les apports du DO sont peu significatifs ou nuls sur la période considérée ;
- le débit de la rivière est pratiquement nul du 17 au 25 mars 2008 ;
- deux pics de débits importants ont été observés pour la rivière Chaudanne (courbe de couleur magenta sur la **Figure 27**) pour la période allant du 09 au 30 avril 2008. Il s'agit du pic du 11 (le plus important) et de celui du 30 avril 2008. Ces pics doivent correspondre à des périodes où, sur la base de la quantité d'eau précipitée pour les événements pluvieux y relatifs, la rivière est alimentée par des ruissellements de surface et par l'apport des rejets ponctuels se déversant dans la Chaudanne.

V.5. CAMPAGNE DE PRELEVEMENTS - RIVIERE CHAUDANNE

La campagne de prélèvements du 15 février 2008 a été réalisée en collaboration avec le CEMAGREF de Lyon tant en ce qui concerne la phase de terrain (depuis le choix des points de prélèvement jusqu'au protocole de prélèvement des échantillons) que pour la phase de collecte de données sur le site d'étude.

[3] Un déversement du DO (courbe de couleur bleue sur la **Figure 27**) accompagne toujours une pluie et correspond, à ce moment là, à un pic de débit soudain mais **chaque pluie ne déclenche pas forcément un déversement du DO**.

V.5.1. Points de prélèvement

Trois des 5 stations d'étude ont été retenues : la station S2 située à 100 m environ en amont du DO ; la station S3 se trouvant à une distance approximative de 110 m en aval du DO et la station S4 se trouvant à 200 m environ de la station S3 (soit à plus de 300 m du DO). Le déversoir d'orage (DO) est considéré comme le point majeur d'apport en polluants au niveau de la zone d'étude. A proximité de la station S4 se déverse un rejet issu d'une zone commerciale. Ce rejet est principalement actif en période pluvieuse et draine le parking de cette zone commerciale [Vivier, 2006].

La station S2 est impactée par des rejets diffus de l'agriculture et des rejets d'eau pluviale, mais elle peut être considérée comme station témoin en amont du déversoir d'orage (DO) en vue d'apprécier l'impact des rejets déversés par ce DO sur la qualité du cours d'eau.

Figure 28 : **Vue aérienne d'un tronçon de la rivière chaudanne se limitant à la zone d'étude avec la position approximative des points de prélèvement (S2, S3 et S4) (sans échelle)**

V.5.2. Horizons étudiées

Pour chacune des 3 stations d'étude retenues, 3 horizons différents ont été explorés : l'eau circulante ou « Eau de Surface (ES) », la zone benthique (B) et la zone hypothéique (H). La **Figure 29** présente une coupe schématique de la rivière représentant la situation à l'échelle de la station d'étude. La position approximative des points où les prélèvements ont été effectués est également présentée sur cette figure.

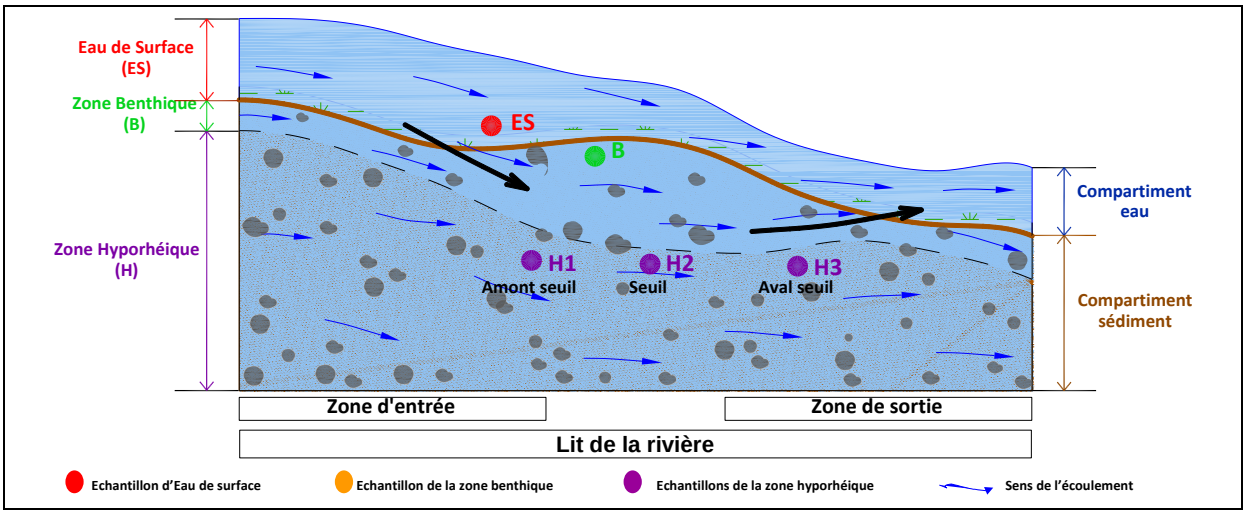


Figure 29 : **Coupe longitudinale d'un seuil géomorphologique de la rivière - Position approximative des points de prélèvement en fonction des horizons d'étude (adaptée de : http://depts.washington.edu/natmap/water/1fldhypo.html et [Cournoyer, 2009])**

Pour les stations S3 et S4, les échantillons ont été prélevés de la façon indiquée sur la **Figure 29**. Cependant, pour la zone hyporhéique de ces deux stations, on a choisi de travailler sur des échantillons moyens. Ces échantillons moyens ont été constitués en réalisant un mélange de 3 échantillons, à volumes équivalents, prélevés : en amont du seuil (point H1), au niveau du seuil[4] (point H2) et en aval du seuil (point H3).

En ce qui concerne la station S2, les échantillons d'eau de surface et de la zone benthique ont été prélevés selon les indications de la **Figure 29**. Par contre, pour l'horizon « zone hyporhéique » de cette même station, un seul échantillon a été prélevé au niveau du seuil (point H2) ; cet échantillon est dénommé S2-H dans la suite de l'étude.

V.5.3. Prélèvement et conditionnement des échantillons ramenés en laboratoire

V.5.31. Prélèvement des échantillons

V.5.311. Eau de Surface (ES)

Les échantillons d'eau de surface ont été récupérés par prélèvements successifs au moyen d'un bécher puis versés dans des flacons en polyéthylène de 5 litres.

[4] En hydrologie, un seuil désigne un obstacle particulier à l'écoulement, pouvant lui-même prendre plusieurs formes : a) un point haut dans le profil en long d'un cours d'eau ou d'une canalisation ; b) une surélévation du radier d'un ouvrage ; c) le dessus d'une digue ; etc. [Ellis *et al.*, 2004]. Au niveau de cette section, on observe, entre autres, une accélération du courant (de l'écoulement) et une réduction du chenal. Lorsque les raisons qui expliquent cette modification sont d'origine géomorphologique, on parle alors de seuils géomorphologiques.

V.5.312. Zone benthique (B)

Les échantillons de la zone benthique ont été récupérés au moyen d'une drague à main mise au point par le CEMAGREF de Lyon. La **Figure 30** présente le matériel utilisé ainsi que le dispositif de prélèvement. Cette drague, en acier inoxydable non-peint, est surtout recommandée pour la réalisation de prélèvements dans des cours d'eau calmes et peu profonds.

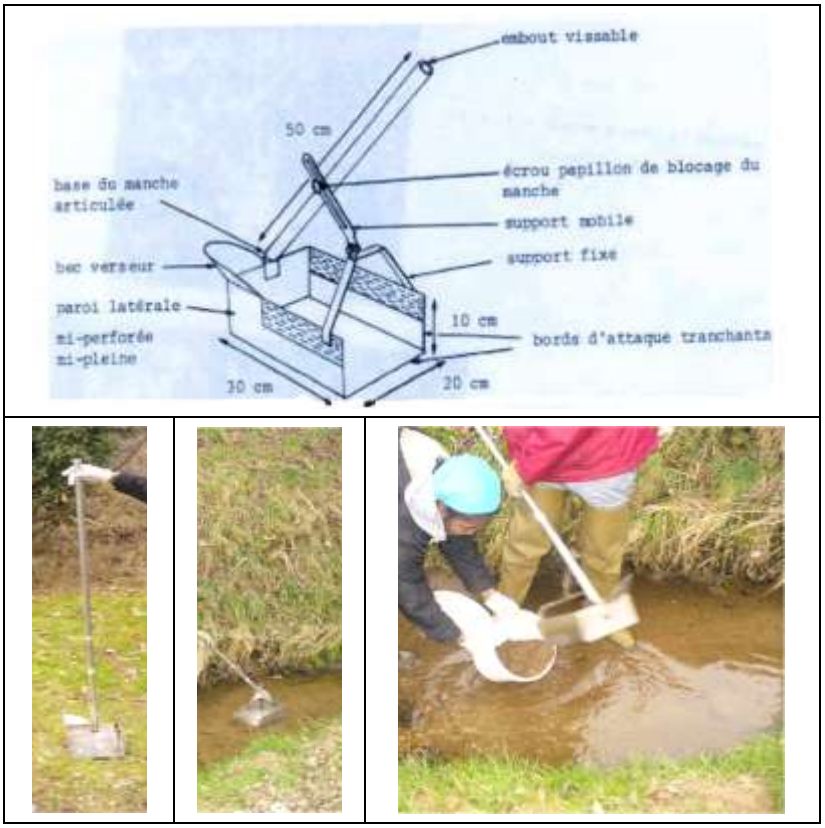


Figure 30 : **Matériels et dispositif de prélèvement des échantillons de la zone benthique (photos : [Motte, 2008] ; Angerville, 2008)**

Le principe consiste à racler soigneusement la zone benthique sur une profondeur de 10 cm environ pour récupérer le sédiment qui est ensuite transféré dans un récipient adéquat. La drague est munie de grilles perforée sur ses parois latérales (au niveau de sa partie supérieure) et d'un bec verseur favorisant l'évacuation de l'eau excédentaire. Le volume échantillonné est de ce fait constitué essentiellement de sédiment et d'un volume minimal d'eau surnageante.

Les échantillons de sédiments de la zone benthique prélevés dans la rivière Chaudanne ont été transférés dans des seaux en polyéthylène de 10 litres puis conditionnés pour être transportés au laboratoire.

V.5.313. Zone hyporhéique (H)

Les échantillons de la zone hyporhéique ont été extraits au moyen de la méthode de pompage Bou-Rouch qui est facile à mettre en oeuvre aussi bien dans le lit d'une rivière que sur ses berges. La **Figure 31** présente le matériel utilisé ainsi que le dispositif de prélèvement (pompe et sonde crépinée).

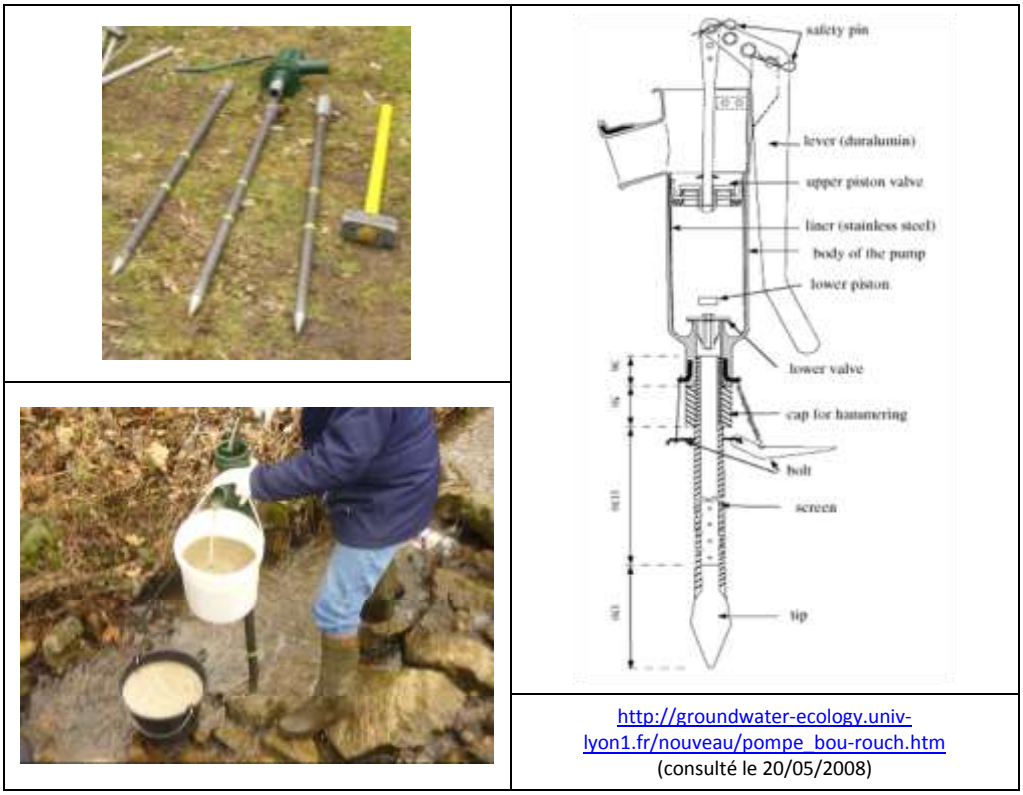


Figure 31 : **Matériels et dispositif de prélèvement des échantillons de la zone hyporhéique (photos : Angerville, 2008)**

Le principe de la méthode est de créer une perturbation et de maintenir un flux d'eau interstitielle suffisant autour d'une sonde pour récupérer un échantillon de la zone hyporhéique. Le mélange de sédiments et d'eau obtenu par pompage est récupéré dans un seau en polyéthylène. Une attention particulière a été portée au volume maximal échantillonné en vue de diminuer les impacts sur le fonctionnement du système.

Les échantillons de la zone hyporhéique ont été constitués comme il a été décrit dans le paragraphe présentant les horizons étudiés. Ainsi, pour les stations S3 et S4, les échantillons ramenés au laboratoire étaient des échantillons moyens (S3-H et S4-H). Pour la station S2, l'échantillon a été prélevé au niveau du seuil.

Pour la station S4, identifiée au cours d'études préalables comme étant la station la plus polluée [Vivier, 2006], il a été fait le choix de procéder à une caractérisation de l'échantillon prélevé en aval du seuil (S4-H3). En effet, au moment de la campagne de prélèvement, les mesures *in situ* ont

permis d'observer que l'échantillon prélevé au niveau de ce point (S4-H3) présentait la plus faible concentration en oxygène dissous (0,6 mg/L).

Les échantillons ainsi obtenus ont été conditionnés dans des seaux en polyéthylène de 10 litres pour être transportés au laboratoire. La fraction de l'échantillon S4-H3 retenue pour une caractérisation individuelle a été conditionnée dans un flacon de 2L.

V.5.32. Conditionnement des échantillons ramenés en laboratoire

V.5.321. Eau de Surface (ES)

Les échantillons d'eau de surface conditionnés et transportés au laboratoire on été fractionnés et répartis dans différents récipients en polyéthylène puis conservés au réfrigérateur à 4 °C, dès leur arrivée.

Le fractionnement des échantillons a été réalisé sur la base des analyses de caractérisation prévues, en constituant des fractions homogènes entre elles. Ainsi, trois fractions ont été constituées : une fraction destinée à la caractérisation physico-chimique, une fraction destinée à la caractérisation écotoxicologique, la portion restante a été conservée par congélation pour d'éventuelles analyses complémentaires ultérieures.

V.5.322. Zone benthique (B)

A l'arrivée des échantillons au laboratoire, on a procédé à une première analyse granulométrique par tamisage manuel des échantillons bruts de la zone benthique selon le principe décrit au paragraphe V.6.12 (page 202). Suite à cette analyse granulométrique, les échantillons ont été fractionnés et répartis dans différents récipients en polyéthylène puis conservés au réfrigérateur à 4 °C.

Le fractionnement des échantillons a été réalisé sur la base des analyses de caractérisation prévues, en constituant des fractions homogènes entre elles. Ainsi, quatre fractions ont été constituées : une fraction destinée à la caractérisation physico-chimique, une fraction destinée à des analyses granulométriques par diffraction laser, une fraction destinée à la caractérisation écotoxicologique, la portion restante a été conservée par congélation pour d'éventuelles analyses complémentaires ultérieures.

V.5.323. Zone hyporhéique (H)

Une fois au laboratoire, on a procédé à une première analyse granulométrique, par tamisage, des échantillons bruts de la zone hyporhéique, selon le principe décrit au paragraphe V.6.12 (page 202). Suite à cette analyse granulométrique, les échantillons ont été fractionnés et répartis dans différents récipients en polyéthylène puis conservés au réfrigérateur à 4 °C.

Le fractionnement des échantillons a été réalisé sur la base des analyses de caractérisation prévues, en constituant des fractions homogènes entre elles. Quatre fractions ont été constituées : une fraction destinée à la caractérisation physico-chimique, une fraction destinée à des analyses

granulométriques par diffraction laser, une fraction destinée à la caractérisation écotoxicologique, la portion restante étant conservée par congélation pour d'éventuelles analyses complémentaires ultérieures.

V.5.4. Préparation des échantillons

Les protocoles de préparation des échantillons dépendent de deux paramètres : (i) les analyses de caractérisation prévues (physico-chimique, granulométrique, écotoxicologique), et (ii) des horizons concernées (eau de surface, zone benthique, zone hyporhéique). En effet, les échantillons sont de natures différentes selon l'horizon d'étude. Par conséquent, il a fallu procéder, quand le besoin se faisait sentir à des adaptations de protocoles. Les détails y relatifs (protocole retenu et préparation réalisée) sont présentés dans les paragraphes suivants, en fonction des horizons d'étude.

En ce qui concerne les échantillons des zones benthique et hyporhéique, il a été fait le choix d'étudier séparément la phase « aqueuse » (obtenue suite à une simple décantation) et la phase « solide » de ces échantillons. Pour la séparation de ces deux phases, on a opté pour une décantation pendant un temps d'1 minute[5] après homogénéisation de chaque échantillon. Cette phase dite « aqueuse » est constituée d'eau et de particules fines d'où sa dénommination : « Eau et particules fines » dans la suite du document. Cette fraction « Eau et particules fines » est essentiellement constituée du surnageant de l'échantillon avec les particules fines qui sont restées en suspension après le temps de décantation (1 minute) choisi. Ce surnageant est transvasé dans un autre récipient et tout ce qui reste au fond du premier récipient (le récipient de départ) constitue la phase « solide » de l'échantillon qui est dénommé « Sédiment » dans la suite du document.

V.6. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES ECHANTILLONS DES 3 STATIONS D'ETUDE

V.6.1. Caractérisation physico-chimique des échantillons de la rivière Chaudanne

La caractérisation physico-chimique des échantillons prélevés a été réalisée au moyen de mesure *in situ* et de mesures en laboratoire. Les mesures *in situ* ont été réalisées par le CEMAGREF de Lyon et portent essentiellement sur les échantillons de la zone hyporhéique. En ce qui concerne les analyses réalisées en labortoire, elles portent sur les différentes horizons étudiées (eau de surface, zone benthique et zone hyporhéique) et sur différentes fractions de ces échantillons (filtrat à 0,45 µm, la fraction « eau et particules », la fraction « sédiment »).

V.6.11. Analyses physico-chimiques

Le Tableau 27 présente les paramètres retenus pour caractériser les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne (Commune de Grézieu-La-Varenne en France). Les

[5] Ce temps de décantation a été fixé après des essais préalables de décantation et avec l'objectif de séparer les particules qui décantent rapidement (sable, …) des particcules les plus fines qui restent en suspension après la période de décantation choisie.

protocoles de réalisation de ces analyses ont été présentés dans les sections sur la caractérisation des échantillons de RUTP (section III à la page 159, section IV à la page 177).

Tableau 27 : Caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme	LQ
Paramètres globaux	pH*	Brut : Ech. hyporhéique	-	-
	T (°C)*	Brut : Ech. hyporhéique	-	-
	Conductivité*	Brut : Ech. hyporhéique	-	-
	O_2 dissous*	Brut : Ech. hyporhéique	-	-
	Ammonium*	Filtré à 0,45 µm : Ech. Eau de Surface	-	-
	MES**	Brut : Ech. Eau de Surface	NF EN 872	2 mg/L
	DCO**	Brut : Ech. Eau de Surface, Ech. benthique Ech. hyporhéique	Test en tube C3/25 (WTW) Test en tube C4/25 (WTW)	10-150 mg/L 25-1500 mg/L
Métaux	Cadmium (Cd)***	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr)***	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu)***	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni)***	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb)**	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn)***	Filtré à 0,45 µm	NF T 90-112 (SAA-flamme)	100 µg/L

* Données CEMAGREF de Lyon ; ** Analyses réalisées à POLDEN ; *** Analyses réalisées au LSE
Le dosage des métaux pour l'échantillon brut a été réalisé après minéralisation de ce dernier

Tableau 28 : Analyses réalisées sur les particules et les sédiments des échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon	Norme	LQ
Métaux	Cadmium (Cd)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Chrome (Cr)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cuivre (Cu)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Nickel (Ni)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Plomb (Pb)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zinc (Zn)	Particules et sédiments minéralisés	NF EN ISO 15587-1 adaptée NF T 90-112 (SAA-flamme)	100 µg/L
Autres	Matière Sèche (MS)	Particules et sédiments	NF T 90-029	-
	Perte au feu	Particules et sédiments	NF T 90-029	-

V.6.12. Granulométrie

L'analyse granulométrique a été réalisée pour les échantillons des zones benthique et hyporhéique. Elle s'est déroulée en deux étapes :

- la première étape a consisté en une analyse granulométrique des échantillons bruts par tamisage au moyen de la sélection de tamis suivante : 8 mm, 4 mm et 2 mm. Les refus de cette succession de tamis sont classés dans la catégorie des graviers (2 mm < D < 64 mm) selon les classes granulométriques définies par Wentworth [1922]. En plus de permettre de caractériser les échantillons, ce tamisage est réalisé afin de pouvoir travailler sur des sédiments de diamètre maximal uniforme. La coupure a été fixée à 2 mm. Les caractérisations physico-chimique et écotoxicologiques ont été réalisées sur les tamisats à 2 mm ;
- dans un second temps, on a procédé à une analyse plus fine des échantillons par la méthode de diffraction laser. Elle a été réalisée sur les tamisats à 1,6 mm des échantillons, selon le principe présenté au paragraphe III.4.2 de la page 170. Les résultats sont présentés sous la forme de courbes de fréquence au moyen de deux courbes : la courbe rouge pour les analyses réalisées sans appliquer des ultrasons, la courbe bleue pour les analyses réalisées après l'application des ultrasons pendant 1 mn (voir **Figure 63** à la page 336).

V.7. CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE DES ECHANTILLONS DE LA RIVIERE CHAUDANNE

V.7.1. Constitution de la batterie « simplifiée » de bioessais mono-spécifiques utilisée

La démarche *a posteriori* d'EDREcotox proposée est développée autour de la mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques en laboratoire sur les échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne. Une batterie de bioessais dite « simplifiée » a ainsi été constituée en sélectionnant des bioessais de la batterie « complète » proposée dans le cadre de la démarche *a priori* développée pour les échantillons de RUTP.

En raison du nombre de points de prélèvement, d'échantillons à tester, d'horizons d'étude retenus, des volumes en jeu, …, nous avons constitué une batterie « simplifiée » en sélectionnant des essais simples, de durée relativement courte et de protocole de mise en œuvre relativement non contraignant. La batterie « simplifiée » de bioessais mono-spécifiques proposée est constituée des essais : **(1)** d'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* (Dm 24h et Dm 48h), **(2)** d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf 30mn), **(3)** l'essai de toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* (Bc 48h), **(4)** d'inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* mis en contact avec une phase solide (Vf 20mn), **(5)** l'essai de toxicité chronique vis-à-vis d'*Heterocypris incongruens* (Hi 6j).

En fonction de la matrice testée ou de certains critères techniques, quelques uns des protocoles présentés préalablement ont subi des adaptations en vue de répondre à l'objectif de notre démarche qui est de mettre en évidence l'écotoxicité éventuelle des échantillons testés. Pour certains protocoles (*Daphnia magna*, *Vibrio fischeri* 30mn, ou *Brachionus calyciflorus*) les adaptations sont d'ordre « mineur » tandis que pour d'autres (*Vibrio fischeri* 20mn ou *Heterocypris incongruens*) les adaptations réalisées sont plus importantes. Les paragraphes suivants présentent plus en détail les essais retenus ainsi que leur protocole de mise en œuvre.

V.7.2. Batterie « simplifiée » de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre sur les échantillons de la rivière Chaudanne

V.7.21. Inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (Dm)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 6341 (T 90-301) [1996] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe I.3.31 (page 116).

L'essai a été mis en œuvre sur la phase liquide des échantillons après homogénéisation manuelle suivie d'une décantation d'1 heure. La gamme de dilutions testée pour chacun des échantillons a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à un témoin.

V.7.22. Inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri* (Vf)

V.7.221. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur les échantillons d'eau de surface (ES)

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé diffère de celui présenté au paragraphe II.2.3.2.2.2 (page 139)

uniquement sur le fait que l'essai a été mis en œuvre sur les échantillons bruts d'eau de surface (ES) des 3 stations d'étude, et non sur les filtrats à 0,45 µm. La **Figure 32** présente les détails du protocole utilisé.

Pour chacun des échantillons, une gamme (identique) de 8 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à deux témoins (ou blancs).

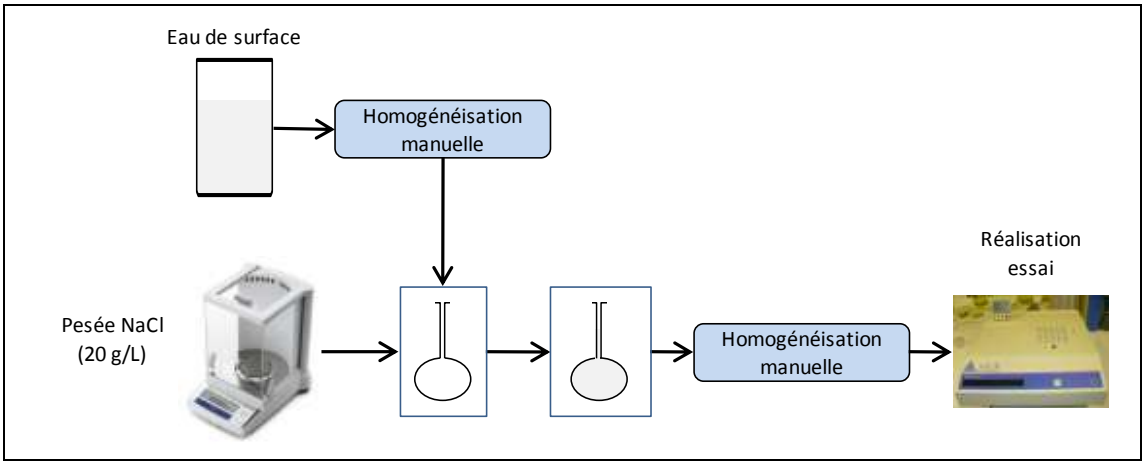


Figure 32 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Phase Liquide sur les échantillons d'eau de surface**

V.7.222. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique

Cet essai a été réalisé d'après la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] dont une fiche récapitulative est présentée en annexe de ce document (voir Annexe A). Il a été mis en œuvre sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique.

Les détails du protocole utilisé sont présentés dans la Figure 33. Ce protocole diffère de celui présenté au paragraphe II.2.3.2.2.2 (page 139) uniquement sur le fait que l'essai a été mis en œuvre sur des fractions non filtrées des échantillons testés. Pour chacun des échantillons testés, une gamme de 8 dilutions a été réalisée dans des tubes à essai, parallèlement à deux témoins (ou blancs).

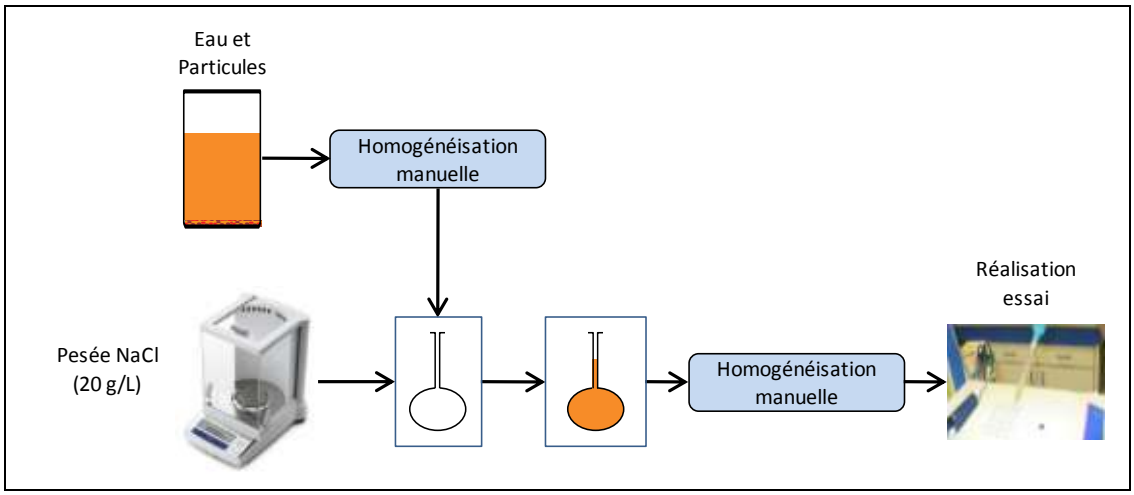


Figure 33 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique**

V.7.223. Essai *V. fischeri* mis en œuvre sur la fraction « Sédiment » des échantillons des zones benthique et hyporhéique

Le protocole utilisé est une version adaptée du protocole du fournisseur AZUR Environmental [1998b] qui est présenté dans les annexes de ce document (voir Annexe A).

Le mode opératoire pour les étapes précédant la mise en contact des bactéries avec le sédiment est décrit dans la **Figure 34**. Pour des raisons d'ordre technique cette étape initiale a subi une aptation par rapport au mode opératoire décrit par AZUR Environmental [1998b]. Cette adaptation porte essentiellement sur les modes de mise en contact et d'incubation de l'essai. En effet, le protocole initial prévoit une mise en contact direct des bactéries avec l'échantillon sur la base d'une gamme de dilutions réalisée dans des tubes spéciaux facilitant la filtration de l'échantillon après la période d'incubation. L'incubation se fait à 15 °C dans un incubateur externe associé à l'appareil Microtox®. Le filtrat obtenu au terme de la période d'incubation est transféré dans les tubes à essai adaptés au Microtox ® afin de procéder à la lecture de la décroissance de la luminosité en fonction de la gamme de dilutions testée. Deux blancs sont réalisés en parallèle de la gamme de dilutions testée.

Le modèle de l'appareil utilisé dans le cadre de cette étude ne dispose pas de l'incubateur externe adapté. Pour tester la phase « sédiment » nous avons donc proposé le protocole présenté par la **Figure 34** et qui est une adaptation de deux autres protocoles existants : 1) celui proposé par le fournisseur pour la réalisation de l'essai sur les sédiments ([AZUR Environmental, 1998b]); 2) celui utilisé pour la caractérisation des particules des RUTP et qui a été présenté au paragraphe II.2.3.3.1.2 (page 148).

Notre protocole propose une mise en contact des bactéries avec les filtrats de la gamme de dilutions, dans les tubes à essais du Microtox®. Dès lors l'incubation se fait dans les puits du Microtox ®. Notre protocole permet ainsi une lecture initiale de la luminescence des bactéries avant de procéder à la lecture de leur luminescence après exposition aux filtrats de la gamme de dilutions de l'échantillon

testé. Cette lecture de luminescence initiale n'est pas prévue dans le protocole du fournisseur, ce qui ne permet pas l'évaluation de la décroissance de la luminescence dans le temps. Le protocole du fournisseur permet seulement la comparaison des luminescences d'une dilution à l'autre.

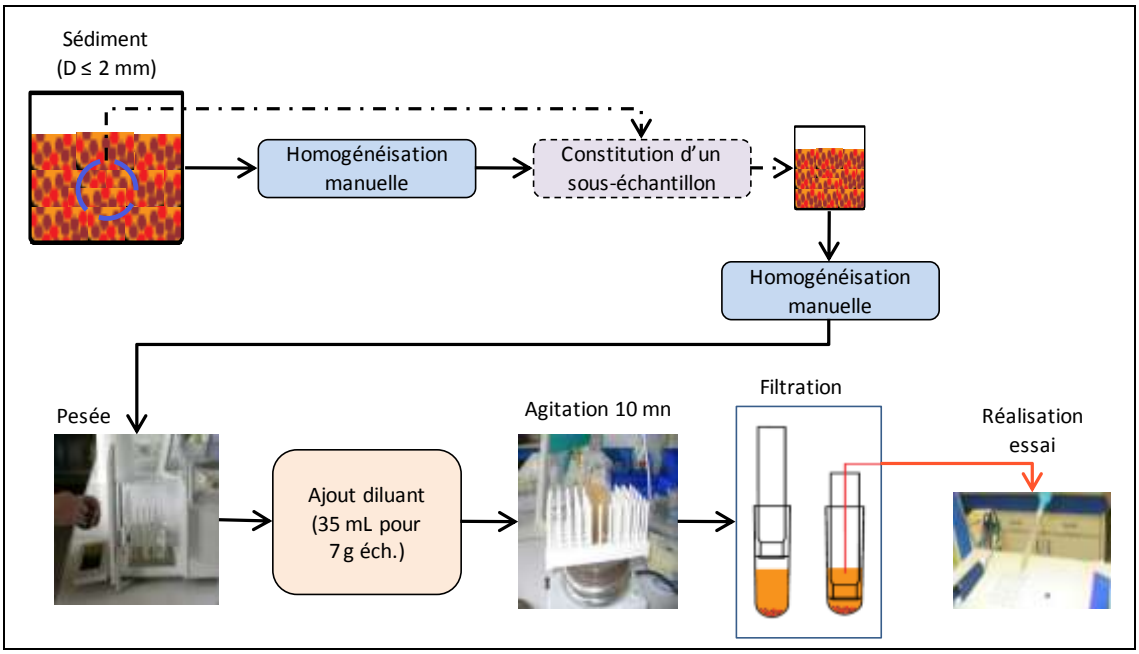


Figure 34 : **Protocole expérimental utilisé pour la réalisation de l'essai Microtox® Solid-Phase sur les sédiments des zones benthique et hyporhéique**

V.7.23. Rotoxkit™ F - Essai de toxicité chronique vis-à-vis de *B. calyciflorus* (Bc 48 h)

Cet essai a été réalisé selon les indications du manuel standard du « Rotoxkit™ F - Chronic Toxicity Test for Freshwater » [MicroBioTests Inc., 2006] (voir fiche récapitulative à l'Annexe A). Le protocole utilisé a été présenté au paragraphe II.2.3.2.4.2 (page 144).

L'essai a été mis en œuvre sur les échantillons d'« Eau de Surface (ES) » et sur la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique.

V.7.24. OstracodToxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments avec *H. incongruens* (Hi)

L'essai « Ostracodtoxkit™ F - Chronic " Direct Contact " Toxicity Test for Freshwater Sediments » (essai ostracode) a été mis en œuvre selon les indications du manuel standard du fournisseur [MicroBioTests Inc., 2004]. Une fiche récapitulative de ce protocole figure dans les annexes de ce document (voir Annexe A). Le protocole utilisé a déjà été présenté au paragraphe II.2.3.3.2.2 (page 151).

Cet essai a été mis en œuvre pour les échantillons d'eau de surface et pour les échantillons des zones benthique et hyporhéique. Nous avons également procédé à une adaptation du protocole de

réalisation de cet essai. Cette adaptation consiste à mettre cet essai en œuvre sur la base d'une gamme de dilutions de l'échantillon à tester au lieu de tester uniquement l'échantillon brut. En parallèle à cette adaptation, nous avons également suivi les concentrations en oxygène dissous pour les gammes de dilutions réalisées. Les détails de ces protocoles sont présentés dans les paragraphes suivants.

V.7.241. Réalisation de l'essai ostracode avec gamme de dilutions - Mise au point et mise en œuvre du protocole

Tout comme cela est réalisé pour d'autres essais en milieu aquatique (*D. magna*, *C. dubia*, …), nous avons mis en œuvre l'essai ostracode sur la base d'une gamme de dilutions. Pour y parvenir, des adaptations ont été réalisées en ce qui concerne le ratio « sédiment : eau » de « 1 : 4 » proposé dans le protocole du fournisseur :

i) pour les échantillons d'eau de surface la gamme de dilution n'a pas pris en compte la contribution du sédiment dans le ratio initial proposé. Ainsi l'essai s'est déroulé avec une gamme de dilutions réalisée sur la base d'un volume total de travail de 4 mL réparti entre l'échantillon à tester, le milieu standard et les algues indispensables pour l'alimentation des organismes. La gamme testée est constituée de 4 concentrations dont la maximale est de 50% (2 mL d'échantillon ; 1 mL de milieu standard (MS) et 1 mL d'algues) et la minimale, de 12,5% (0,5 mL d'échantillon ; 2,5 mL de MS et 1 mL d'algues) ;

ii) pour la zone benthique, les échantillons prélevés étant majoritairement constitués de sédiments, le protocole « essai osctracode avec gamme de dilutions » a été mis en œuvre uniquement sur la fraction « Sédiments grossiers (SG) » de ces échantillons. Pour ce faire, la gamme de dilution a été constituée sur la base d'une variation du ratio « sédiment : eau » du protocole initial ([MicroBioTests Inc., 2004]). L'eau, ici, est une suspension de milieu standard et d'algues avec un apport constant de 2 mL d'algues. La gamme testée est constituée de 4 ratios dont le maximal est « 2 : 4 » (SG : eau) et le minimal « 0,5 : 5,5 » (SG : eau). La fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone benthique n'a été testée qu'au ratio maximal « 2 : 4 » (EPF : eau) ;

iii) à l'inverse de la zone benthique, la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons prélevés pour la zone hyporhéique est en proportion nettement plus importante que la fraction « Sédiment grossiers (SG) » de ces échantillons hyporhéiques. De ce fait, le protocole « essai osctracode avec gamme de dilutions » n'a été mis en œuvre que sur la fraction EPF de ces échantillons. Les ratios maximal et minimal de la gamme de dilutions testée sont identiques à ceux présentés dans le paragraphe ci-dessus : « 2 : 4 » (EPF : eau) et « 0,5 : 5,5 » (EPF : eau). La fraction « Sédiments grossiers (SG) » des échantillons de la zone hyporhéique n'a été testée qu'au ratio maximal « 2 : 4 » (SG : eau)

Pour les échantillons testés sur la base d'une gamme de dilutions, les résultats sont présentés uniquement pour les concentrations maximale et minimale testées.

V.7.242. Suivi de l'oxygène dissous et de la température pour l'essai ostracode - Mise au point et mise en œuvre du protocole

Parallèlement à la mise en œuvre de l'essai ostracode avec gamme de dilutions, un protocole a également été mis au point pour suivre la concentration en oxygène dissous dans le milieu d'essai, pour les différents ratios testés, en début et en fin d'essai. En effet, les volumes d'essai disponibles dans les microplaques ne permettaient pas de faire les mesures. La mise en œuvre de ce protocole, consiste en la réalisation d'une réplique de chacune des concentrations testées dans des béchers dans lesquels des ostracodes ont été rajoutés (10 ostracodes/bécher). Les mesures d'oxygène dissous ont été réalisées, avant et après les 6 jours d'incubation, au moyen d'un oxymètre ionLab Level 2.

La température des milieux d'essai a été suivie en parallèle avec l'oxygène dissous, en début et en fin d'essai. Les mesures ont été réalisées dans les béchers ayant servi à doser l'oxygène dissous, au moyen d'une sonde à température associée à l'oxymètre utilisé.

Ce protocole de suivi de l'oxygène dissous et de la température des milieux d'essai a été utilisé pour les essais réalisés sur les échantillons des zones benthique et hyporhéique.

Les résultats sont présentés uniquement pour les concentrations maximale et minimale de la gamme de dilutions testée.

V.7.3. Synthèse de l'approche proposée pour la caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne

La **Figure 35** synthétise la démarche proposée pour caractériser les effets écotoxicologiques des échantillons de la rivière Chaudanne, en adoptant une approche reposant sur la mise en œuvre d'une « batterie de bioessais mono-spécifiques ». Cette démarche repose sur la mise en œuvre des essais, présentés dans les paragraphes précédents, qui constituent la batterie de bioessais mono-spécifiques proposée.

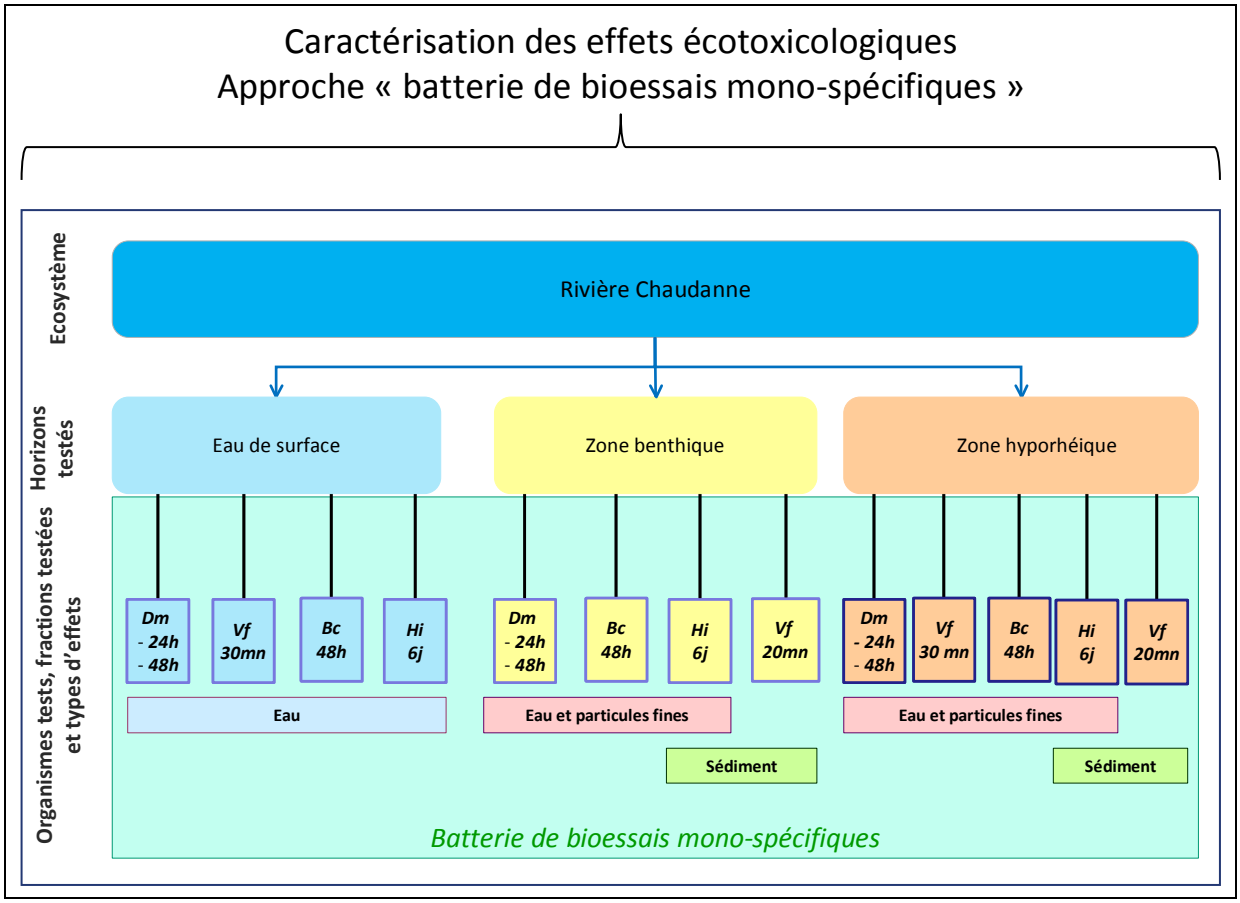


Figure 35 : **Démarche retenue pour la caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons des 3 stations d'étude la rivière Chaudanne**

Le Tableau 29 présente une synthèse de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour la caractérisation en laboratoire des échantillons des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne, sur la base des 3 horizons et des différentes fractions testées.

Tableau 29 : Synthèse des bioessais mis en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne pour chacune des 3 stations d'étude

Type d'exposition	Organisme test	Norme/Protocole	Critère d'effet mesuré (durée d'exposition)	Préparation de l'échantillon		Remarques			
				Horizon	Action	Horizon	Eau brute	Eau et particules fines*	Sédiment*
Aiguë	*Daphnia magna* (Dm)	NF EN ISO 6341 (T 90-301)	Mobilité (24 h et 48 h)	- Surface - Benthique - Hyporhéique	Décantation (1 h) Décantation (1 h) Décantation (1 h)	Surface Benthique Hyporhéique	Oui Oui Oui	- Non Non	- Non Non
	Vibrio fischeri (Vf)	ISO 11348-3	Luminescence (30 mn)	- Surface - Benthique - Hyporhéique	Echantillon brut Récupération de la fraction « eau et particules fines »*	Surface Benthique Hyporhéique	Oui Non Non	- Non Oui	- Non Non
		Microtox® Solid Phase Test avec I_0	Luminescence (20 mn)	- Surface - Benthique - Hyporhéique	- Sédiments ≤ 2 mm récupérés par décantation	Surface Benthique Hyporhéique	Non Non Non	- Non Non	- Oui Oui
Chronique	*Brachionus calyciflorus* (Bc)	Protocole RoToxkit™ F	Croissance de la population (48 h)	- Surface - Benthique - Hyporhéique	Echantillon brut Récupération de la fraction « eau et particules fines »*	Surface Benthique Hyporhéique	Oui Non Non	- Oui Oui	- Non Non
	Heterocypris incongruens (Hi)	Protocole OstracodToxkit™ F	Mortalité Croissance des organismes (6 j)	- Surface - Benthique - Hyporhéique	Echantillon brut Récupération de la fraction « eau et particules fines »* **&** Sédiments ≤ 2 mm récupérés par décantation	Surface Benthique Hyporhéique	Oui Oui Oui	Oui Oui Oui	Oui Oui Oui

* La fraction « Eau et particules fines » correspond au surnageant de l'échantillon suite à une décantation d'1 minute. Elle est récupérée par transfert dans un second récipient. La fraction restante dans le récipient initial correspond à la fraction dénommée « sédiments ≤ 2 mm » ou « Sédiment ».

V.8. APPROCHE METHODOLOGIQUE PROPOSEE POUR L'EDRECOTOX POUR LA RIVIERE CHAUDANNE DANS LE CADRE D'UNE DEMARCHE *A POSTERIORI*

Les risques écotoxicologiques pour la rivière Chaudanne seront évalués par rapport au DO du Pont de la Barge à partir duquel on peut définir une situation « amont » et une situation « aval ». Ainsi, les risques sont évalués pour chacun des horizons étudiés (ES, B et H), sur la base de la comparaison des résultats physico-chimiques et écotoxicologiques obtenus pour les stations en « aval » (S3 et S4) par rapport aux résultats obtenus pour la station en amont du DO (S2).

La campagne de prélèvements n'ayant pas été réalisée pendant que le DO est actif, les résultats portant sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) permettront d'établir de corrélation directe avec les apports de rejets du DO du Pont de la Barge.

La tendance globale qui sera dégagée de cette comparaison (amont vs aval) permettra de mettre en évidence le risque écotoxicologique qui serait imputable aux apports en polluants du DO dans la rivière Chaudanne, à travers les RUTP que ce DO déverse dans cette rivière.

PARTIE C : RESULTATS

Cette partie du document est destinée à la présentation des résultats découlant de la phase expérimentale de cette étude. Les résultats obtenus seront présentés dans l'ordre qui suit :

- La première section porte sur l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants généralement présents dans les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP). Cette étude est conduite vis-à-vis de deux organismes aquatiques : le crustacé *Daphnia magna* et l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* ;

- La deuxième et la troisième section présentent les résultats de la caractérisation d'échantillons de RUTP pour chacune des villes concernées par cette étude : une ville de la France et une ville d'Haïti ;

- La quatrième et la cinquième section sont consacrées à l'application de la méthodologie d'évaluation des risques écotoxicologiques (**EDREcotox**) ***a priori*** proposée aux deux cas de figure étudiés : un scénario d'une zone péri-urbaine française et un scénario d'Haïti. Les résultats présentés dans les trois premières sections seront alors utilisés en vue d'évaluer les risques associés à chacun des *scenarii* étudiés ;

- La dernière section de cette partie du document présente les résultats de l'évaluation des risques écotoxicologiques (**EDREcotox**) ***a posteriori*** réalisée pour la rivière péri-urbaine du scénario français soumise au déversement de RUTP. Ces résultats découlent d'une caractérisation des risques écotoxicologiques au moyen de bioessais pratiqués sur des échantillons des différents compartiments de la rivière, exposés *in situ*.

ECOTOXICITE ET EFFETS COMBINES DE POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

I. ECOTOXICITE ET EFFETS COMBINES DE POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

Cette phase de l'étude traite essentiellement de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants généralement présents dans les RUTP. Elle a été réalisée sur la base de solutions synthétiques préparées en laboratoire, selon les protocoles présentés dans les matériels et méthodes (I.3.3 PROTOCOLE DE MISE EN ŒUVRE DES ESSAIS). Le Tableau 30 synthétise les différentes dispositions adoptées pour réaliser cette partie de l'étude.

Les essais préliminaires réalisés avec le nitrate et le sulfate d'ammonium vis-à-vis de la daphnie ont révélé que le sulfate d'ammonium est plus toxique vis-à-vis de cet organisme que le nitrate d'ammonium. On a donc choisi de poursuivre cette étude avec le sulfate d'ammonium.

Cette étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants présents dans les RUTP porte sur quatre nitrates métalliques (nitrate de Cd, nitrate de Cu, nitrate de Pb et nitrate de Zn) et le sulfate d'ammonium, pour les substances pures. En ce qui concerne les mélanges binaires, sept ont été étudiés vis-à-vis de la mobilité de la daphnie en 24 heures et six vis-à-vis de l'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *P. subcapitata* en 72 heures.

Les deux premières sections présentent les résultats de l'écotoxicité des substances pures (vis-à-vis de la daphnie puis des algues), suivis de ceux obtenus pour les mélanges binaires (daphnie puis algues). La troisième section présente les caractéristiques générales des interactions de chacun des ratios des différents mélanges étudiés vis-à-vis des deux organismes tests, au moyen du modèle des TI. La dernière section est dévolue à la spéciation des solutions (substances ou mélanges) mises en expérimentation. Dans le cas des mélanges binaires, pour alléger le document, seuls les résultats des ratios 1:1 (50% substance A/50% substance B) sont présentés pour chaque mélange binaire étudié et pour chaque organisme test utilisé.

Afin de faciliter la présentation de certains graphiques et tableaux, nous avons adopté une forme d'écriture simplifiée qui utilise uniquement le symbole de l'espèce chimique étudié. Ainsi, la notation « Cu », par exemple, ne fait pas référence à l'ion libre (Cu^{2+}) contenue dans les solutions testées mais elle représente plutôt la forme chimique sous laquelle l'élément a été utilisé pour la préparation de la solution testée ($Cu(NO_3)_2$).

Les valeurs numériques des CE_{50} et des TI, ainsi que leurs intervalles de confiance à 95%, sont présentées en annexe de ce document (Annexe C et Annexe D respectivement).

Tableau 30 : Grille expérimentale relative à l'étude de l'écotoxicité des substances et des mélanges binaires testés ainsi que de leurs effets combinés vis-à-vis des organismes tests retenus

<table>
<tr><th colspan="2">Description</th><th colspan="2">Conditions expérimentales</th></tr>
<tr><td rowspan="3">Substances</td><td rowspan="2"></td><td>Forme chimique testée</td><td>Organisme test (critère effet – durée)</td></tr>
<tr><td>- Nitrate Cd (noté Cd)
- Nitrate Cu (noté Cu)
- Nitrate Pb (noté Pb)
- Nitrate Zn (noté Zn)</td><td>- D. magna (mobilité - 24h)
et
- P. subcapitata (croissance - 72h)</td></tr>
<tr><td>Métaux : Cd, Cu, Pb, Zn</td><td>- Sulfate NH_4 (note NH4)</td><td>- D. magna (mobilité - 24h)</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Mélanges binaires</td><td rowspan="2">substance A / substance B</td><td>- Cd / Cu
- Cd / Zn
- Pb / Cd
- Pb / Cu
- Pb / Zn
- Zn / Cu</td><td>- D. magna (mobilité - 24h)
et
- P. subcapitata (croissance - 72h)</td></tr>
<tr><td>- NH_4 / Cu</td><td>- D. magna (mobilité - 24h)</td></tr>
<tr><td>Ratios testés pour chaque mélange binaire (en % masse/masse)</td><td colspan="2">- substance A 20% - substance B 80%
- substance A 40% - substance B 60%
- substance A 50% - substance B 50%
- substance A 60% - substance B 40%
- substance A 80% - substance B 20%</td></tr>
<tr><td colspan="2">Conservation des solutions mères (substances ou mélanges)</td><td colspan="2">± 4°C</td></tr>
<tr><td colspan="2">Calcul des Concentrations d'Effet (CE_{50})
et modélisation des courbes Concentration-Effet</td><td colspan="2">Macro « REGTOX » (EV 7.0.5) - modèle de Hill [Hill, 1910] ; Vindimian et al. [1983]</td></tr>
<tr><td>Méthodes d'étude des effets</td><td>Sur la base des CE_{50} pour toutes les substances et ratios testés</td><td colspan="2">• comparaison des CE_{50}
• modèle des TI (Toxicity Index) pour les effets combinés uniquement</td></tr>
<tr><td>Spéciation chimique</td><td>• toutes les substances testées par rapport à chaque essai
• uniquement le ratio 50-50 pour chaque mélange binaire testé et chaque essai</td><td colspan="2">PHREEQC (version 2.15.0-2697) [Parkhurst et Appelo, 2008] - base de données Minteq.v4.dat</td></tr>
</table>

I.1. ECOTOXICITE DES SUBSTANCES ETUDIEES

Les paragraphes suivants présentent les principaux résultats obtenus pour les solutions synthétiques des polluants étudiés. Les effets écotoxicologiques ont été étudiés vis-à-vis de deux organismes très utilisés en écotoxicologie aquatique et appartenant à des niveaux différents de la chaîne trophique : le curstacé *Daphnia magna* (consommateur primaire) et l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* (producteur primaire).

I.1.1. Ecotoxicité des substances vis-à-vis de *D. magna*

Les données expérimentales des essais d'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* en 24h ont permis de tracer des courbes concentrations-effets pour chacune des substances étudiées. Ces courbes sont présentées au moyen de la Figure 36 et permettent d'apprécier les effets de ces substances vis-à-vis de la daphnie, sur la base de la gamme de concentrations testées pour chacune des substances étudiées.

L'analyse de cette figure permet de procéder à une première classification de ces substances en termes de toxicité vis-à-vis de *D. magna*. En procédant au classement sur la base d'une écotoxicité décroissante, on aboutit à l'ordre suivant : $Cu(NO_3)_2 > Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 > (NH_4)_2SO_4$.

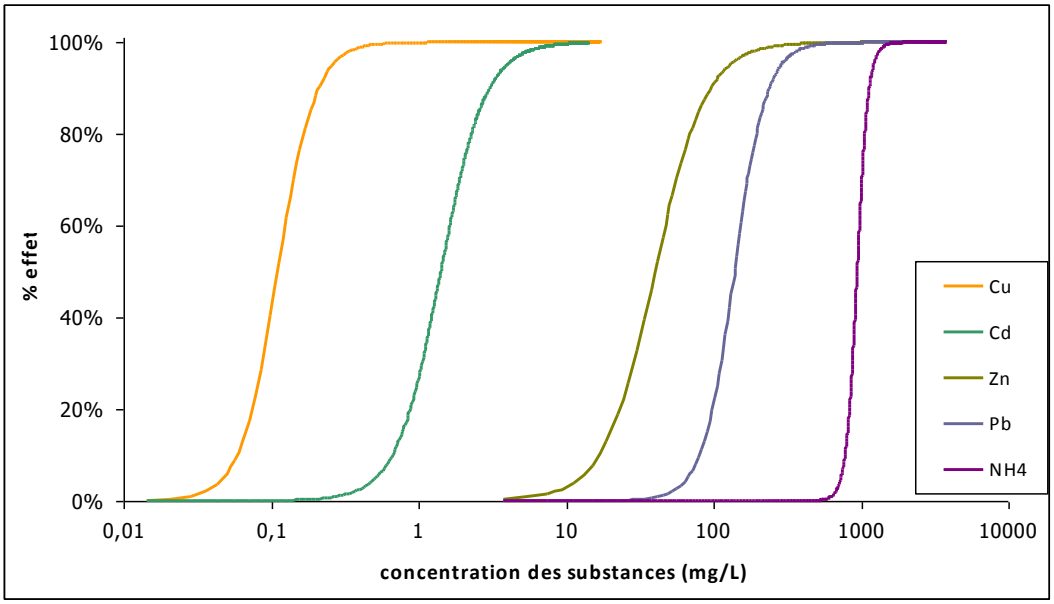


Figure 36 : **Courbes concentrations-effets des substances étudiées vis-à-vis de *D. magna***

Le Tableau 31 regroupe les valeurs de CE_{50}-24h calculées, encadrées de leurs intervalles de confiance (IC 95%), sur la base des expérimentations mises en œuvre pour chacune des substances étudiées vis-à-vis de *D. magna*. Les valeurs figurant dans ce tableau nous permettent d'apprécier les écarts de toxicité qui existent entre ces différentes substances. Elles sont exprimées en mg de sel/L.

Tableau 31 : Valeurs de CE_{50}-24h pour les substances testées vis-à-vis de *D. magna*

	Sels testés	Abréviation	CE_{50}-24h (mg de sel/L)	IC 95% (mg de sel/L)	CE_{50}-24h (mg d'ion/L)
Métaux	$Cu(NO_3)_2$	**Cu**	0,11	0,10 ; 0,12	0,04 mg Cu/L
	$Cd(NO_3)_2$	**Cd**	1,4	1,3 ; 1,6	0,67 mg Cd/L
	$Zn(NO_3)_2$	**Zn**	40,4	34,5 ; 47,2	13,9 mg Zn/L
	$Pb(NO_3)_2$	**Pb**	139,5	124,6 ; 153,4	87,3 mg Pb/L
	$(NH_4)_2SO_4$	**NH_4**	948,0	915,8 ; 987,8	258,8 mg NH_4/L

Sur la base des valeurs de CE_{50}-24h vis-à-vis de *D. magna*, le nitrate de Cu ressort comme la substance la plus toxique vis-à-vis de la daphnie. La comparaison de la CE_{50}-24h de chacune de ces substances par rapport à la CE_{50}-24h du nitrate de Cu révèle que le nitrate de Cu a été environ 10 fois plus toxique que le nitrate de Cd, plus de 300 fois plus toxique que le nitrate de Zn, plus de 1200 fois plus toxique que le nitrate de Pb et plus de 8600 fois plus toxique que le sulfate de NH_4.

La dernière colonne de ce même tableau (Tableau 31) présente ces valeurs de CE_{50}-24h vis-à-vis de *D. magna* mais exprimées par rapport à la concentration totale de l'élément introduit initialement. Ces concentrations ne proviennent pas des calculs de spéciation.

Sur la base de cette forme de présentation des résultats, on aboutit au même classement général qui a été réalisé au moyen des valeurs de CE_{50}-24h vis-à-vis de *D. magna* exprimées en termes de mg du sel concerné. Par contre, quand on compare la CE_{50}-24h de chacune de ces espèces chimiques par rapport à la CE_{50}-24h du Cu, on constate que le Cu a été environ 16 fois plus toxique que le Cd, plus de 300 fois plus toxique que le Zn, plus de 2100 fois plus toxique que le Pb et plus de 6400 fois plus toxique que le sulfate de NH_4.

On observe donc une variation des rapports de toxicité par rapport au cuivre selon la forme de présentation des résultats, néanmoins cela n'affecte nullement le classement établi en termes de niveau toxique des sels testés vis-à-vis de *D. magna*.

Au final, on peut dire que le nitrate de Cu est le nitrate métallique le plus toxique vis-à-vis de la daphnie par rapport aux 3 autres nitrates métalliques testés. Le nitrate de Cu est donc retenu pour la préparation de mélange binaire avec le sulfate de NH_4.

I.1.2. Ecotoxicité des substances vis-à-vis de P. subcapitata

La **Figure 37** présente les courbes concentrations-effets pour chacune des substances métalliques étudiées vis-à-vis de l'algue *Pseudokirchnerielle subcapitata*. Ces courbes sont tracées avec les données expérimentales des différents essais d'inhibition de la croissance de l'algue qui ont été mis en œuvre, sur la base de la gamme de concentrations testées pour chacune des substances étudiées.

L'analyse de cette figure permet de procéder à une première classification de ces substances en termes de toxicité vis-à-vis de *P. subcapitata*. En procédant au classement sur la base d'une écotoxicité décroissante, on aboutit à l'ordre suivant : $Cu(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 \approx Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2$.

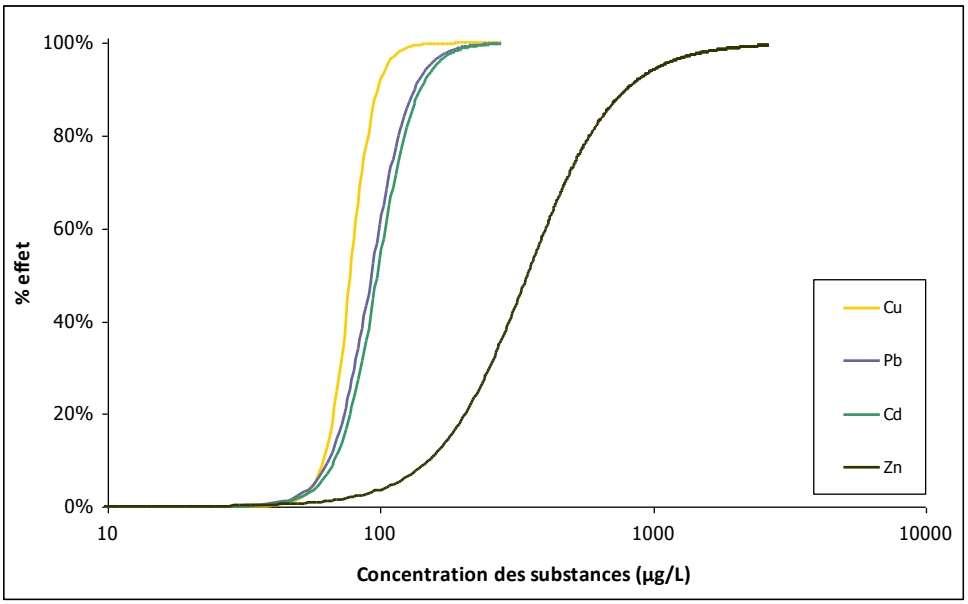


Figure 37 : **Courbes concentrations-effets des substances étudiées vis-à-vis de *P. subcapitata***

Le Tableau 32 regroupe les valeurs de CE_{50}-72h calculées, encadrées de leurs intervalles de confiance (IC 95%), sur la base des expérimentations mises en œuvre pour chacune des substances étudiées vis-à-vis de *P. subcapitata*. Les valeurs figurant dans ce tableau nous permettent d'apprécier les facteurs de toxicité qui existent entre ces différentes substances. Elles sont exprimées en µg de sel/L.

Tableau 32 : Valeurs de CE_{50}-72h pour les nitrates métalliques testés vis-à-vis de *P. subcapitata*

	Sels testés	Abréviation	CE_{50}-72h (µg de sel/L)	IC 95% (µg de sel/L)	CE_{50}-72h (µg d'ion/L)
Métaux	$Cu(NO_3)_2$	**Cu**	77,9	69,5 ; 86,2	26,4 µg Cu/L
	$Pb(NO_3)_2$	**Pb**	92,9	86,1 ; 99,3	58,1 µg Pb/L
	$Cd(NO_3)_2$	**Cd**	97,7	72,9 ; 109,3	46,4 µg Cd/L
	$Zn(NO_3)_2$	**Zn**	347,0	258,7 ; 425,7	119,8 µg Zn/L

Sur la base des valeurs de CE_{50}-72h vis-à-vis de *P. subcapitata*, le nitrate de Cu ressort comme la substance la plus toxique vis-à-vis de l'algue Ps. La comparaison de la CE_{50}-72h de chacune de ces substances par rapport à la CE_{50}-72h du nitrate de Cu révèle que le nitrate de Cu est environ 1,2 fois plus toxique que le nitrate de Pb, environ 1,3 fois plus toxique que le nitrate de Cd et près de 4,5 fois plus toxique que nitrate de Zn. Le nitrate de Pb n'est que de 1,05 fois plus toxique que le nitrate de Cd, pour l'algue Ps.

La dernière colonne du Tableau 32 présente les valeurs de CE_{50}-72h vis-à-vis de l'algue Ps mais exprimées par rapport à la concentration totale de l'élément introduit initialement. Ces concentrations ne proviennent pas des calculs de spéciation.

Sur la base de cette forme de présentation des résultats de toxicité, on constate que le plomb et le cadmium ont changé de place par rapport au classement général réalisé au moyen des valeurs de CE_{50}-72h vis-à-vis de l'algue Ps exprimées en termes de µg du sel concerné. Par contre, quand on compare la CE_{50}-72h de chacune de ces espèces chimiques par rapport à la CE_{50}-72h du Cu, on constate que le Cu est environ 1,7 fois plus toxique que le Cd, environ 2,2 fois plus toxique que le Pb, et environ 4,5 fois plus toxique que le Zn.

Globalement les rapports de toxicité entre les 3 autres métaux et le cuivre varient légèrement à l'exception du plomb pour lequel il est pratiquement passé du simple au double, selon que l'on exprime les résultats en termes d'ion libre initial ou en termes de nitrate métallique. On constate également que selon la forme de présentation choisi pour les résultats, le classement général établi en termes de niveau toxique des sels testés vis-à-vis de l'algue Ps n'est pas tout à fait le même (échange de position entre le Pb et le Cd).

I.1.3. Bilan des résultats de l'étude de l'écotoxicité des substances vis-à-vis des deux organismes tests

Les résultats pour les essais daphnie (Dm 24h) et algue (Ps 72h) réalisés sur les substances seules mettent en évidence une plus grande sensibilité du test algue par rapport au test daphnie (excepté pour le nitrate de Cu dont l'ordre de grandeur est proche pour les 2 organismes : 110 µg/L pour la daphnie, 77,9 µg/L pour l'algue). La mise en évidence de cette plus grande sensibilité du test algue est en accord avec la littérature [Keddy *et al.*, 1995; Santiago *et al.*, 2002].

Les deux bioessais mis en œuvre conduisent à la même conclusion en ce qui concerne la toxicité du nitrate de Cu (ou encore de l'ion Cu), à savoir qu'il s'est révélé la substance la plus (ou le métal le plus) écotoxique vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps et de la mobilité de la daphnie en 24h. Le sulfate de NH_4 (ou encore l'ion NH_4) est, en revanche, la substance (ou l'ion) la moins écotoxique des substances testées vis-à-vis de la daphnie. Nous rappelons que ce sel n'a pas été testé vis-à-vis de l'algue Ps pour des raisons de faisabilité.

Le nitrate de Cu étant le plus écotoxique des nitrates métalliques testés vis-à-vis de la daphnie, c'est lui qui est retenu pour la réalisation de mélange binaire avec le sulfate de NH_4.

Le nitrate de Pb est classé en 2ème position en terme d'écotoxicité vis-à-vis de l'algue Ps tandis qu'il est classé en 4ème position quand il s'agit de la daphnie. Par contre, si on se base sur les concentrations ioniques, le Pb occupe la 3ème position en terme de toxicité vis-à-vis de l'algue Ps tandis qu'il conserve toujours la 4ème position, vis-à-vis de la daphnie.

En ce qui concerne le nitrate de Cd, il est légèrement moins toxique que le nitrate de Pb vis-à-vis de l'algue Ps alors qu'il est classé en 2ème position pour le test daphnie. Si on se réfère aux concentrations ioniques, le Cd occupe la 2ème position en terme de toxicité vis-à-vis de l'algue Ps et conserve toujours la 2ème position, vis-à-vis de la daphnie.

Le nitrate de Zn est le moins écotoxique des quatre substances métalliques testées vis-à-vis de l'algue Ps tandis qu'il est classé en 3ème position (encadré par les nitrates de Cd et de Pb) vis-à-vis de la daphnie. En se basant sur les concentrations ioniques, le Zn occupe la 4ème position en terme de toxicité vis-à-vis de l'algue Ps alors qu'il occupe la 3ème position, vis-à-vis de la daphnie.

Dans le cadre des essais réalisés avec les algues, des effets s'apparentant aux effets dits « d'hormèse ou hormétiques » ont été mis en évidence, notamment en ce qui concerne les nitrates de Pb et de Zn. L'effet d'hormèse est surtout documenté en ce qui concerne le domaine de la santé. Ce phénomène tendrait à mettre en évidence certains effets bénéfiques pour de faible dose d'un élément ou d'un composé connu pour avoir un effet toxique pour un organisme ou pour l'être humain, à des concentrations plus élevées.

Il importe de signaler que les différentes gammes de concentrations testées dans le cadre de nos expérimentations n'ont pas été spécifiquement définies en vue de mettre en évidence des effets d'hormèse. Par conséquent, nous ne sommes pas en mesure de dire si un tel effet peut-être mis en évidence pour les autres nitrates testés dans le cadre de cette étude.

Une fiche reprenant certains éléments d'information en rapport au phénomène d'hormèse est présentée en annexe de ce document (Annexe B).

En comparant les données sur les nitrates métalliques uniquement, sur la base des résultats de toxicité aiguë et chronique, on observe un niveau de toxicité assez homogène entre certains de ces métaux pour l'essai de toxicité chronique (essai algue Ps) par rapport au niveau de toxicité mis en évidence au moyen de l'essai de toxicité aiguë (essai daphnie).

I.2. ECOTOXICITE DES MELANGES BINAIRES DE SUBSTANCES ETUDIES

Par souci de commodité de présentation, les valeurs expérimentales de CE_{50} sont présentées sous la forme d'histogrammes. Les CE_{50} des substances pures utilisées pour la préparation des différents mélanges binaires étudiés figurent également sur ces histogrammes (aux deux extrémités) en vue d'apprécier les tendances dégagées par rapport aux résultats obtenus pour les substances testées individuellement.

I.2.1. Ecotoxicité des mélanges binaires vis-à-vis de *D. magna*

I.2.11. Mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna*

La **Figure 38** et la **Figure 39** présentent les histogrammes obtenus au moyen des valeurs de CE_{50}-24h calculées pour les différents mélanges binaires testés sur la base des ratios prédéfinis. Ces histogrammes permettent d'apprécier les effets observés en fonction des ratios dans les mélanges ainsi qu'en fonction des substances métalliques utilisés pour la préparation de ces différents mélanges binaires.

La **Figure 38** présente les histogrammes pour les mélanges binaires entre : Cd-Cu, Cd-Zn et Zn-Cu. La **Figure 39** présente les histogrammes pour les mélanges binaires entre : Pb-Cd, Pb-Cu et Pb-Zn. Les intervalles de confiance pour chacune des valeurs de CE_{50} calculées sont également représentés sur les histogrammes.

L'analyse de ces figures permet de mettre en évidence le fait qu'aucun des ratios testés n'est moins écotoxique que la substance la moins toxique utilisée dans le mélange. En d'autres termes, les valeurs de CE_{50}-24h calculées pour les différents ratios testés sont toujours inférieures à la CE_{50}-24h de la substance la moins toxique. Cette constatation est la même pour les six mélanges métalliques étudiés.

Il ressort également des variations en ce qui concerne les valeurs de CE_{50}-24h en fonction des proportions de chacune des substances métalliques constituant les mélanges. Les paragraphes suivants sont destinés à présenter les grandes tendances qui peuvent être dégagées pour chacun de ces six mélanges binaires de substances métalliques sur la base du bioessai Dm 24h.

Le mélange Cd-Cu : De ces deux substances, le nitrate de Cu est plus toxique pour la daphnie que le nitrate de Cd. De manière générale, pour tous les ratios testés, à l'exception du ratio Cd80-Cu20, les valeurs de CE_{50} calculées sont toujours inférieures à celle du nitrate de Cu seul (Cu 100%). On observe également une variation de cette toxicité en fonction de la concentration en nitrate de Cu qu'il y a dans le mélange, i.e. plus la concentration en nitrate de Cu augmente plus les effets toxiques sont prononcés vis-à-vis de la daphnie. 20% de nitrate de Cd tend à rendre le mélange Cd-Cu plus toxique que le nitrate de Cu (facteur ≈ 2) pour la daphnie, tout comme 20% de nitrate de Cu tend à rendre le mélange Cd-Cu nettement plus toxique que le nitrate de Cd (facteur > 7) pour ce même organisme.

Le mélange Cd-Zn : Le nitrate de Cd est plus toxique que le nitrate de Zn pour la daphnie. Pour tous les ratios testés, les valeurs de CE_{50} calculées sont toujours supérieures à celle du nitrate de Cd seul

(Cd 100%). De manière générale, les cinq ratios testés sont toujours moins toxique que nitrate de Cd seul, pour les mélanges Cd-Zn. On observe également que la variation de cette toxicité va dans le même sens que la concentration en nitrate de Zn pour les rations testés, i.e. plus la concentration en nitrate de Zn augmente plus les effets toxiques ont tendance à diminuer vis-à-vis de la daphnie. Notons toutefois que cette démarcation se crée réellement lorsque les concentrations en nitrate de Zn sont de 50%, 60% et 80% dans les mélanges Cd-Zn. Pour les mélanges Cd80-Zn20 et Cd60-Zn40, les facteurs de toxicité sont faibles par rapport au nitrate de Cd seul, i.e. que ces deux mélanges ne sont que 1,2 fois et 1,5 fois, respectivement, moins toxique que le nitrate de Cd pour la daphnie.

Le mélange Zn-Cu : De ces deux substances, le nitrate de Cu s'est révélé plus toxique pour la daphnie que le nitrate de Zn. Deux des cinq ratios testés, Zn20-Cu80 et Zn40-Cu60, présentent des valeurs de CE_{50} inférieures à celle du nitrate de Cu seul (Cu 100%). On observe également une variation de la toxicité en fonction de la concentration en nitrate de Cu qu'il y a dans le mélange, i.e. plus la concentration en nitrate de Cu augmente plus les effets toxiques sont prononcés vis-à-vis de la daphnie. Par contre, pour des concentrations en nitrate de Zn de 50% et de 60% dans le mélange Zn-Cu, les effets toxiques semblent être les mêmes. On observe également, comme cela a été souligné pour le mélange Cd-Cu, que 20% seulement de nitrate de Zn dans le mélange Zn-Cu tend à rendre ce mélange plus toxique que le nitrate de Cu (facteur ≈ 2) pour la daphnie. 20% seulement de nitrate de Cu tend à rendre le mélange Zn-Cu nettement plus toxique que le nitrate de Zn (facteur > 130) pour ce même organisme.

Le mélange Pb-Cd : Le nitrate de Cd s'est révélé plus toxique pour la daphnie que le nitrate de Pb. Tous les ratios testés se sont révélés moins toxiques pour la daphnie que le nitrate de Cd seul (Cd 100%). Trois de ces ratios (Pb20-Cd80, Pb40-Cd60 et Pb50-Cd50) présentent des valeurs de CE_{50} très proches (entre 1,67 et 1,76 mg/L). Les deux autres ratios (Pb60-Cd40 et Pb80-Cd20) ont aussi des CE_{50} très proches (4,12 et 4,46 mg/L respectivement) vis-à-vis de la daphnie. L'allure du graphique ne permet pas de conclure aisément sur une influence nette de la variation des concentrations des substances en mélanges par rapport aux effets observés. Cependant, on est en mesure de dire que pour des concentrations en nitrate de Cd majoritaires la toxicité observée est plus proche de celle du nitrate de Cd seul (Cd 100%) que celle du nitrate de Pb seul, pour la daphnie. Cette tendance se maintient également même pour le mélange à proportions égales (Pb50-Cd50). On constate également que 20% ou 40% de nitrate de Cd dans le mélange Pb-Cd suffit pour rendre ce mélange nettement plus toxique que le nitrate de Pb seul, pour la daphnie (facteur autour de 30, même en prenant en compte les IC 95%).

Le mélange Pb-Cu : Le nitrate de Cu est plus toxique que le nitrate de Pb pour la daphnie. La majeure partie des ratios testés (les 4/5) se sont révélés soit plus toxiques (Pb20-Cu80 et Pb40-Cu60) soit de toxicité proche (Pb50-Cu50 et Pb60-Cu40) de celle observée pour le nitrate de Cu seul (Cu 100%) vis-à-vis de la daphnie. Le ratio Pb80-Cu20 se détache de ce grand groupe puisqu'il est le seul à être moins toxique que le nitrate de Cu testé seul (Cu 100%) vis-à-vis de la daphnie. Tout comme pour le mélange Pb-Cd, l'allure du graphique ne permet pas de conclure aisément sur une influence nette de la variation des concentrations des substances en mélanges par rapport aux effets observés. Cependant, on observe que pour des concentrations en nitrate de Cu majoritaires la

toxicité observée est plus importante que celle du nitrate de Cu seul (Cu 100%), pour la daphnie. On constate également qu'avec 40% ou 50% de nitrate de Cu dans le mélange Pb-Cu les effets observés sont pratiquement équivalents. Il en est de même pour les effets observés pour les deux ratios avec 60% ou 80% de nitrate de Cu dans le mélange binaire. Il ressort également que 20% seulement de nitrate de Pb dans le mélange Pb-Cu tend à rendre ce mélange plus toxique que le nitrate de Cu (facteur ≈ 2) pour la daphnie, tout comme cela a été observé pour les autres mélanges faisant intervenir le nitrate de Cu (Cd-Cu et Zn-Cu). Avec 20% de nitrate de Cu dans le mélange on observe une toxicité nettemment plus importante du mélange Pb-Cu que celle du nitrate de Pb seul (facteur > 450) pour la daphnie.

Le mélange Pb-Zn : Le nitrate de Zn est plus toxique que le nitrate de Pb pour la daphnie. L'allure générale du graphique ne favorise pas la mise en évidence de grandes tendances sur la base des ratios testés. Néanmoins, il ressort que la majeure partie des ratios testés (les 4/5) se sont révélés moins toxiques que le nitrate de Zn testé seul (Zn 100%) vis-à-vis de la daphnie. Seul le ratio Pb40-Zn60 se détache de cette constatation générale puisqu'il est plus toxique que le nitrate de Zn testé seul (Zn 100%) vis-à-vis de cet organisme. On observe également, que pour des concentrations en nitrate de Zn majoritaires dans le mélange Pb-Zn, la toxicité observée est plus proche de celle du nitrate de Zn seul, pour la daphnie. Et, pour des concentrations en nitrate de Pb majoritaires, la toxicité observée est plus proche de celle du nitrate majoritaire dans le mélange. Cette dernière observation s'applique également au ratio Pb50-Zn50. Avec 20% de nitrate de Zn dans le mélange on observe une toxicité plus importante du mélange Pb-Zn que celle du nitrate de Pb seul (facteur≈ 1,5). 40% de nitrate de Pb dans le mélange met en évidence une toxicité légèrement plus importante que celle observée pour le nitrate de Zn seul (facteur ≈ 1,1) vis-à-vis de la daphnie, tandis que 20% de nitrate de Pb tend à rendre le mélange Pb-Zn légèrement moins toxique que le nitrate de Zn seul (facteur ≈ 1,2) pour ce même organisme.

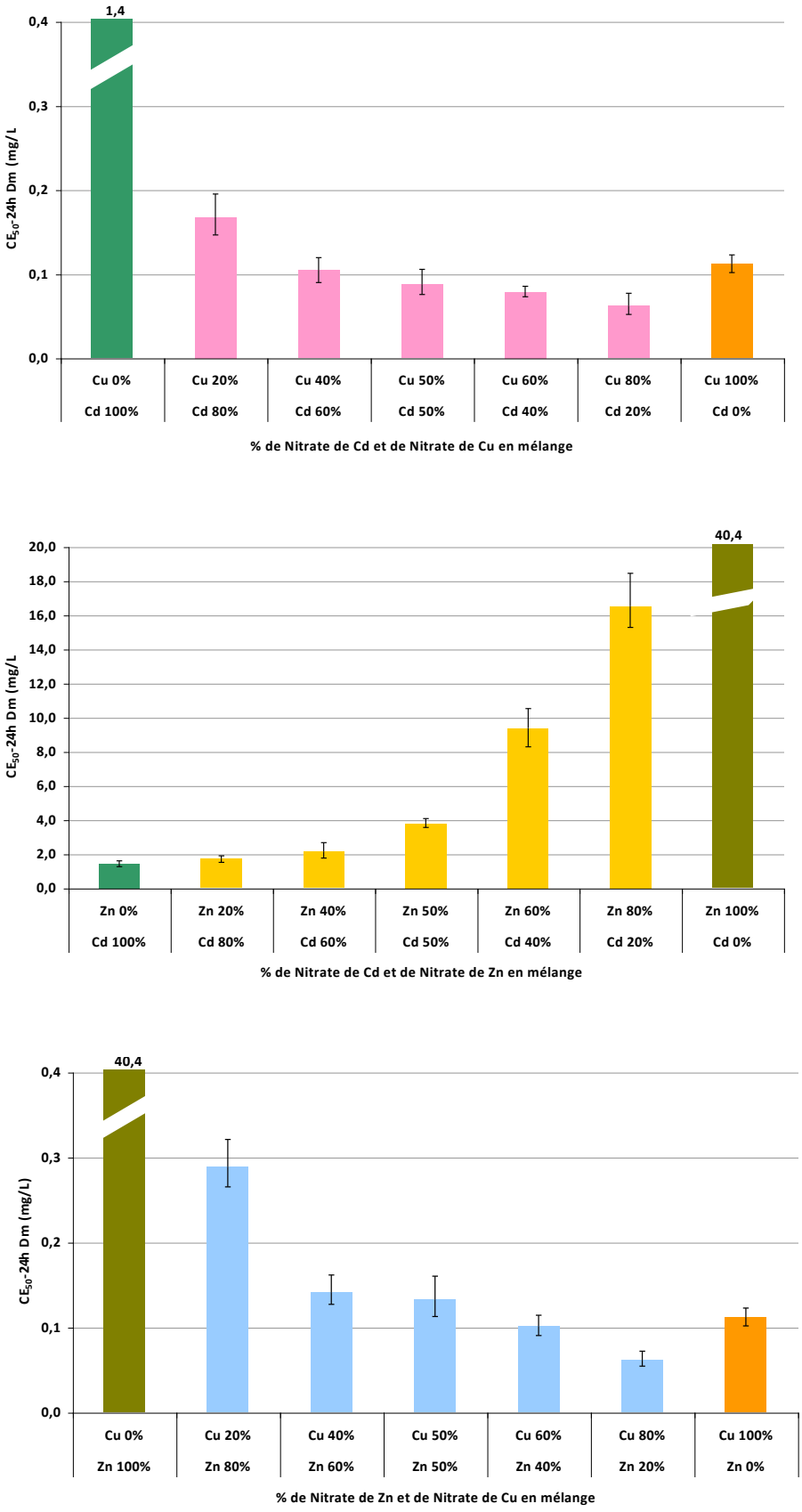


Figure 38 : **CE_{50}-24h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Cd-Cu, Cd-Zn, Zn-Cu) vis-à-vis de *D. magna***

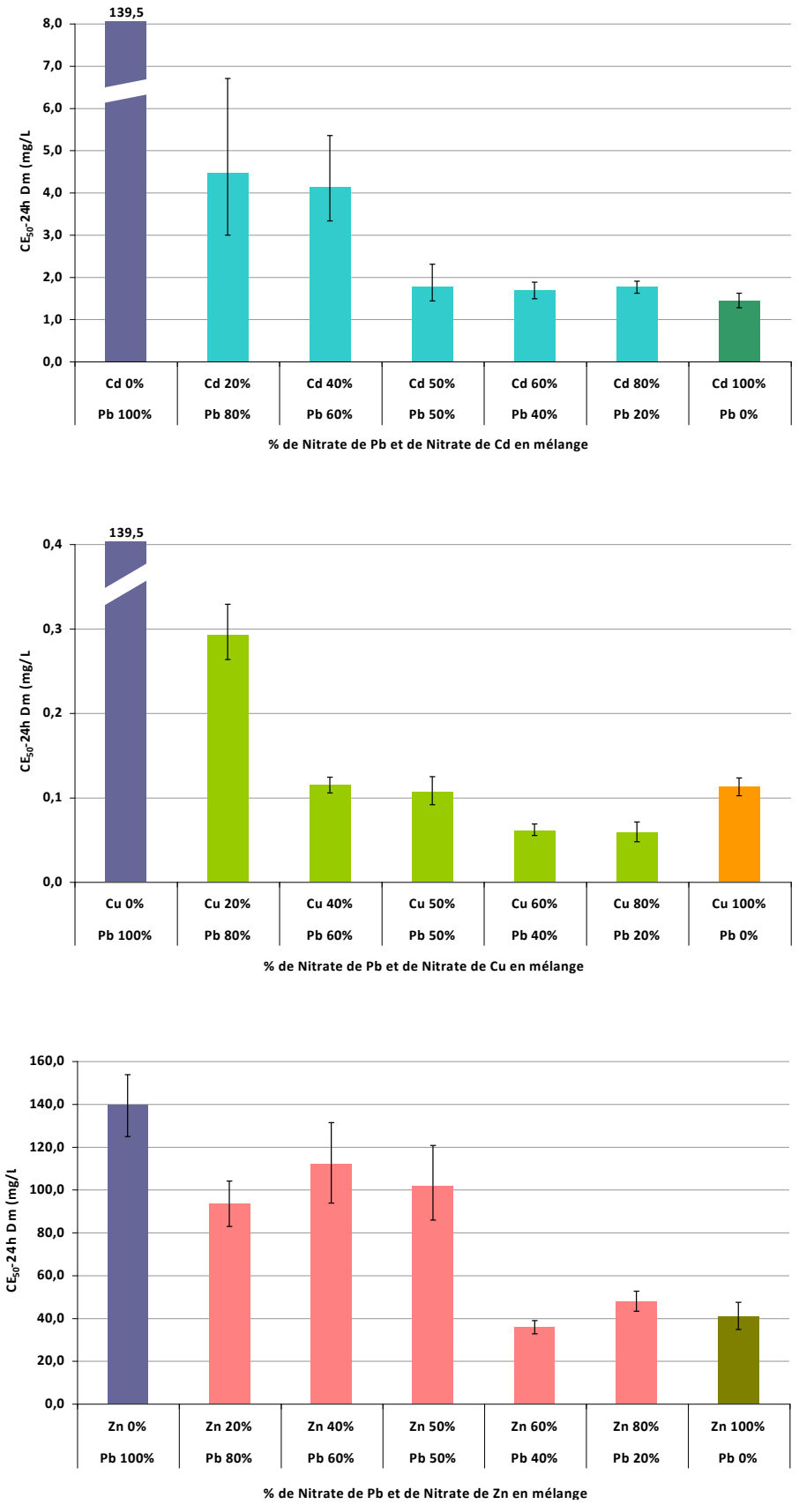


Figure 39 : **CE_{50}-24h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) vis-à-vis de *D. magna***

I.2.12. Mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna*

La **Figure 40** présente l'histogramme obtenu au moyen des valeurs de CE_{50}-24h calculées pour le mélange binaire NH_4-Cu, sur la base des ratios prédéfinis qui ont été testés. Les intervalles de confiance pour chacune des valeurs de CE_{50} calculées figurent également sur l'histogramme.

La toute première information que nous livre l'analyse de cet histogramme est que les cinq ratios testés sont tous plus écotoxiques que le sulfate de NH_4 qui est la substance la moins toxique utilisée dans le mélange (CE_{50} 24h = 948 mg/L). En d'autres termes, comme c'était aussi le cas pour les mélanges métalliques, les valeurs de CE_{50}-24h calculées pour les différents ratios testés sont toujours très inférieures à la CE_{50}-24h de la substance la moins toxique testée seule.

Il ressort, comme pour les mélanges binaires de métaux, des variations des valeurs de CE_{50}-24h en fonction des proportions de chacune des substances. Ainsi, on observe que la concentration en nitrate de Cu du mélange a tendance à influencer la toxicité du mélange, i.e. plus la concentration en nitrate de Cu augmente plus les effets toxiques sont prononcés vis-à-vis de la daphnie. Toutefois, nous relevons aussi certaines particularités.

En effet, on constate, que l'on ait 50% de nitrate de Cu ou 80% de ce même nitrate dans le mélange, les effets toxiques observés sont pratiquement équivalents, soit, respectivement, une CE_{50} 24h = 0,054 mg/L pour le ratio $NH_4$50-Cu50 et une CE_{50} 24h = 0,047 mg/L pour le ratio $NH_4$20-Cu80. De plus ces deux ratios sont plus toxiques que le nitrate de Cu testé seul. Le ratio $NH_4$40-Cu60 appartient aussi au groupe de « ratio plus toxique » que le nitrate de Cu seul, mais dans des proportions légèrement moindres (CE_{50} 24h = 0,065 mg/L). D'autre part, on n'a pas observé de différence significative entre les toxicités du ratio $NH_4$60-Cu40 (CE_{50} 24h = 0,108 mg/L) et de Cu 100%. Par contre, le ratio $NH_4$80-Cu20 se révèle le moins toxique des ratios testés (CE_{50} 24h = 0,232 mg/L) comparativement aux effets observés pour le nitrate de Cu seul (CE_{50} 24h = 0,112 mg/L) vis-à-vis de la daphnie.

On aboutit également au constat que 20% de sulfate de NH_4 dans le mélange NH_4-Cu tend à rendre ce mélange plus toxique pour la daphnie que le nitrate de Cu (facteur ≈ 2,4), tout comme cela a été observé pour les autres mélanges faisant intervenir le nitrate de Cu (Cd-Cu, Pb-Cu et Zn-Cu, pour un facteur ≈ 2). Le ratio 50-50 du mélange NH_4-Cu présente également un facteur autour de 2 par rapport au nitrate de Cu testé seul.

Avec 20% de nitrate de Cu dans le mélange NH_4-Cu, ce mélange tend à être plus de 4100 fois plus toxique vis-à-vis de la daphnie que le sulfate de NH_4 testé seul.

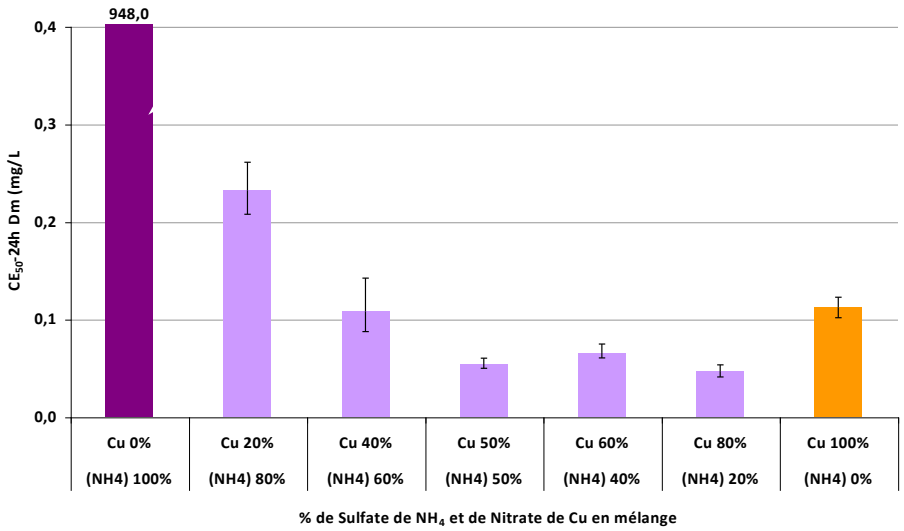


Figure 40 : **CE_{50}-24h et IC95% du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna***

I.2.2. Ecotoxicité des mélanges binaires de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata*

La **Figure 41** et la **Figure 42** présentent les histogrammes obtenus au moyen des valeurs de CE_{50}-72h calculées pour les différents mélanges binaires testés sur la base des ratios prédéfinis, vis-à-vis de l'algue *P. subcapitata*. Ces histogrammes permettent d'apprécier les effets observés en fonction des ratios dans les mélanges ainsi qu'en fonction des substances métalliques utilisées pour la préparation de ces différents mélanges binaires.

La **Figure 41** présente les histogrammes pour les mélanges binaires entre : Cd-Cu, Cd-Zn et Zn-Cu. La **Figure 42** présente les histogrammes pour les mélanges binaires entre : Pb-Cd, Pb-Cu et Pb-Zn. Les intervalles de confiance pour chacune des valeurs de CE_{50} calculées sont également représentés sur les histogrammes.

L'analyse de ces figures permet de mettre en évidence, pour certains mélanges binaires (Cd-Zn et Zn-Cu notamment), des variations des valeurs de CE_{50}-72h en fonction des proportions de chacune des substances métalliques constituant ces mélanges. Les paragraphes suivants présentent les principales observations tirées de ces histogrammes pour chacun des six mélanges binaires de substances métalliques étudiés sur la base du bioessai de la croissance de l'algue Ps en 72h.

Le mélange Cd-Cu : De ces deux substances, le nitrate de Cu est plus toxique que le nitrate de Cd vis-à-vis de l'algue Ps sur la base du test de croissance. L'allure du graphique permet de dire que les effets observés semblent être indépendants de la variation des concentrations des substances dans le mélange binaire. En effet, les valeurs de CE_{50} calculées sont assez proches et varient entre 97,33 µg/L et 114,70 µg/L. Néanmoins, tous les ratios testés pour le mélange Cd-Cu sont moins toxiques que le nitrate de Cu seul (Cu 100%) vis-à-vis de l'algue Ps. De plus, le ratio Cd60-Cu40 s'est révélé le moins toxique de tous les ratios testés mais également moins toxique que chacun des nitrates testés seul (Cd 100% ou Cu 100%) vis-à-vis de cet organisme. Deux ratios (Cd20-Cu80 et Cd40-Cu60) présentent des valeurs de CE_{50} (98,50 µg/L et 97,33 µg/L, respectivement) proches de celle du nitrate de Cd seul (97,71 µg/L).

Le mélange Cd-Zn : De ces deux substances, le nitrate de Cd est plus toxique que le nitrate de Zn par rapport à la croissance de l'algue Ps. Pour tous les ratios testés, les valeurs de CE_{50} calculées sont toujours supérieures à celle du nitrate de Cd seul (Cd 100%). En d'autres termes, les cinq ratios testés sont toujours (légèrement ou significativement) moins toxique que nitrate de Cd seul, pour le mélange Cd-Zn. On observe également que la variation de cette toxicité va dans le même sens que la concentration en nitrate de Zn pour les rations testés, i.e. plus la concentration en nitrate de Zn augmente plus les effets toxiques ont tendance à diminuer vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps. Notons toutefois que cette démarcation est significative lorsque les concentrations en nitrate de Zn sont de 50%, 60% et 80% dans les mélanges Cd-Zn. Pour les mélanges Cd80-Zn20 et Cd60-Zn40, les facteurs de toxicité sont faibles par rapport au nitrate de Cd seul, i.e. que ces deux mélanges ne sont que 1,11 fois et 1,12 fois, respectivement, moins toxique que le nitrate de Cd pour la croissance de l'algue Ps.

Le mélange Zn-Cu : De ces deux substances, le nitrate de Cu s'est révélé plus toxique avec le test de croissance de l'algue Ps que le nitrate de Zn. L'allure du graphique fait ressortir une variation de la

toxicité en fonction de la concentration en nitrate de Cu présente dans le mélange, i.e. plus la concentration en nitrate de Cu augmente plus les effets toxiques sont prononcés vis-à-vis de l'algue Ps. Cette tendance n'empêche nullement que les ratios testés soient tous moins toxiques que le nitrate de Cu seul vis-à-vis de la croissance de l'algue. Par contre, avec des concentrations en nitrate de Zn de 20%, 40% et 50% dans le mélange Zn-Cu, les effets toxiques observés restent assez proches. On constate, également, que 20% de nitrate de Zn dans le mélange Zn-Cu tend à rendre ce mélange environ 1,3 fois moins toxique que le nitrate de Cu, alors qu'avec 20% de nitrate de Cu, le mélange Zn-Cu est plus toxique que le nitrate de Zn seul (facteur ≈ 2) pour ce même organisme.

Le mélange Pb-Cd : Les effets toxique observés pour ces deux substances sont pratiquement du même ordre de grandeur vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps. Deux (Pb40-Cd60 et Pb80-Cd20) des cinq ratios testés légèrement plus toxiques pour l'algue Ps que ces nitrates testés seul (Cd 100% ou Pb 100%). Trois de ces ratios (Pb20-Cd80, Pb50-Cd50 et Pb60-Cd40) présentent des valeurs de CE_{50} proches (entre 94,18 et 103,13 µg/L) de l'un ou de l'autre des substances en mélange. L'allure du graphique ne permet pas de conclure aisément sur une influence de la variation des concentrations des substances en mélanges par rapport aux effets observés. Cependant, on constate que 20% de nitrate de Cd dans le mélange Pb-Cd suffit pour rendre ce mélange plus toxique que le nitrate de Pb seul, en termes de croissance de l'algue Ps (facteur ≈ 1,3).

Le mélange Pb-Cu : Le nitrate de Cu est légèrement plus toxique que le nitrate de Pb vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps. De manière générale, tous les ratios testés se sont révélés moins toxiques que le nitrate de Cu testé seul (Cu 100%) vis-à-vis de l'algue Ps. Le ratio Pb60-Cu40 s'est par contre révélé le moins toxique de tous les ratios testés mais également moins toxique que chacun des nitrates testés seul (Pb 100% ou Cu 100%) vis-à-vis de l'algue Ps. Tout comme pour le mélange Pb-Cd, l'allure du graphique ne permet pas de conclure aisément sur une influence nette de la variation des concentrations des substances en mélanges par rapport aux effets observés. Cependant, on constate qu'avec 20% ou 50% de nitrate de Cu dans le mélange Pb-Cu les effets observés sont presque équivalents. Il en est de même pour les effets observés pour les deux ratios avec 60% ou 80% de nitrate de Cu dans le mélange binaire. En termes de facteurs de toxicité, 20% de nitrate de Pb dans le mélange Pb-Cu tend à rendre le mélange 1,2 fois moins toxique que le nitrate de Cu seul et que 20% de nitrate de Cu tend à rendre le mélange Pb-Cu 1,1 fois plus toxique que le nitrate de Pb seul, vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps.

Le mélange Pb-Zn : Le nitrate de Pb est plus toxique que le nitrate de Zn pour la croissance de l'algue Ps. L'allure générale du graphique révèle que, quelles que soient les concentrations des substances dans le mélange Pb-Zn, les effets toxiques observés se rapprochent beaucoup plus de ceux mis en évidence pour le nitrate de Pb seul (Pb 100% : CE_{50}-72h = 92,9 µg/L) que de ceux du nitrate de Zn seul. Le ratio Pb20-Zn80 constitue l'exception, avec une valeur de CE_{50}-72h de 131,56 µg/L. Néanmoins, il ressort également que les ratios Pb40-Zn60 et Pb80-Zn20 se sont révélés légèrement plus toxiques que le nitrate de Pb testé seul vis-à-vis de l'organisme test. Avec 20% de nitrate de Pb dans le mélange on observe une toxicité plus importante du mélange Pb-Zn que celle du nitrate de Zn seul (facteur≈ 2,6) et que 80% de nitrate de Pb tend à rendre le mélange Pb-Zn plus toxique que le nitrate de Zn seul (facteur ≈ 4) vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps.

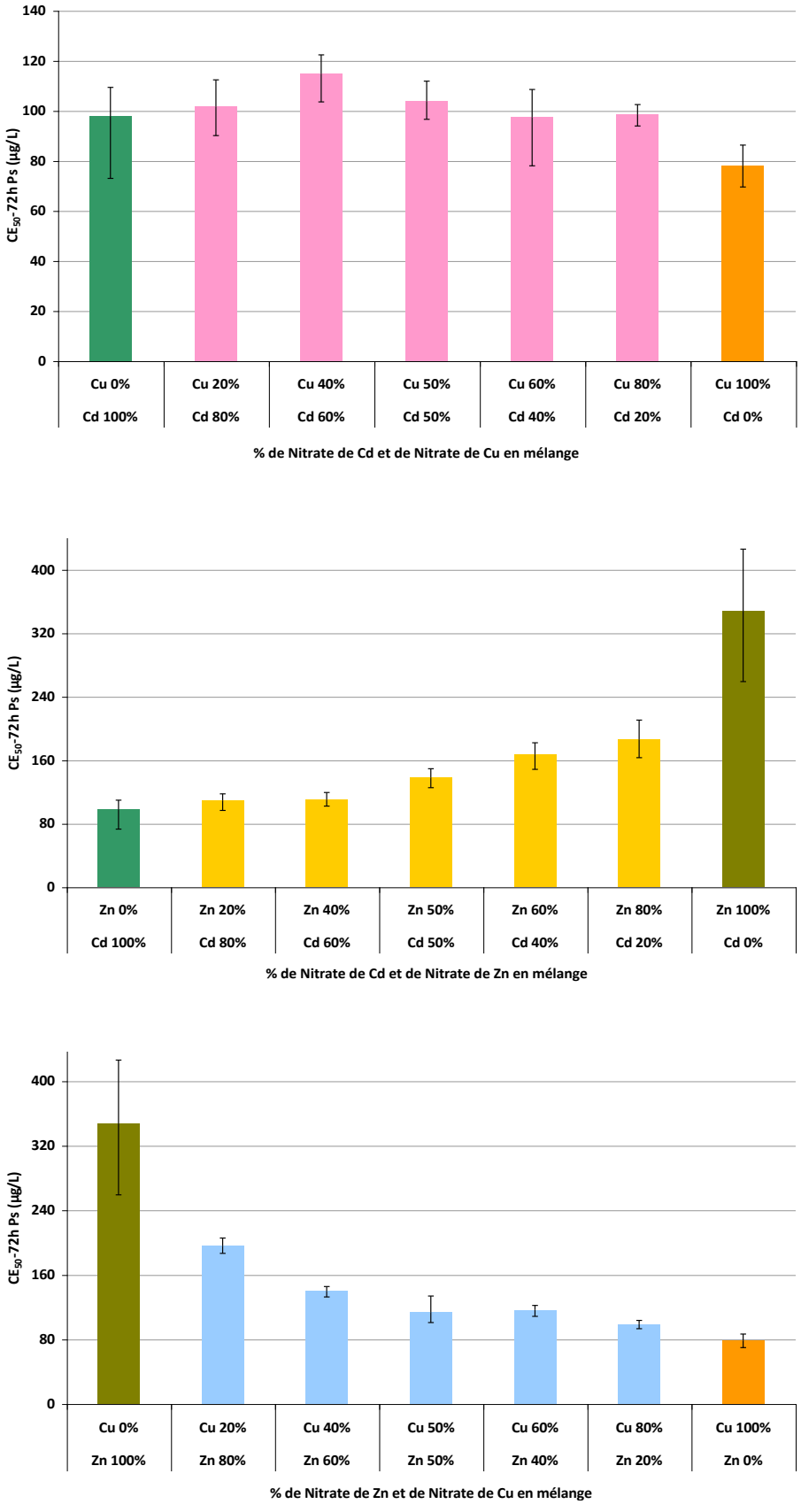


Figure 41 : **CE_{50}-72h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Cd-Cu, Cd-Zn, Zn-Cu) vis-à-vis de *P. subcapitata***

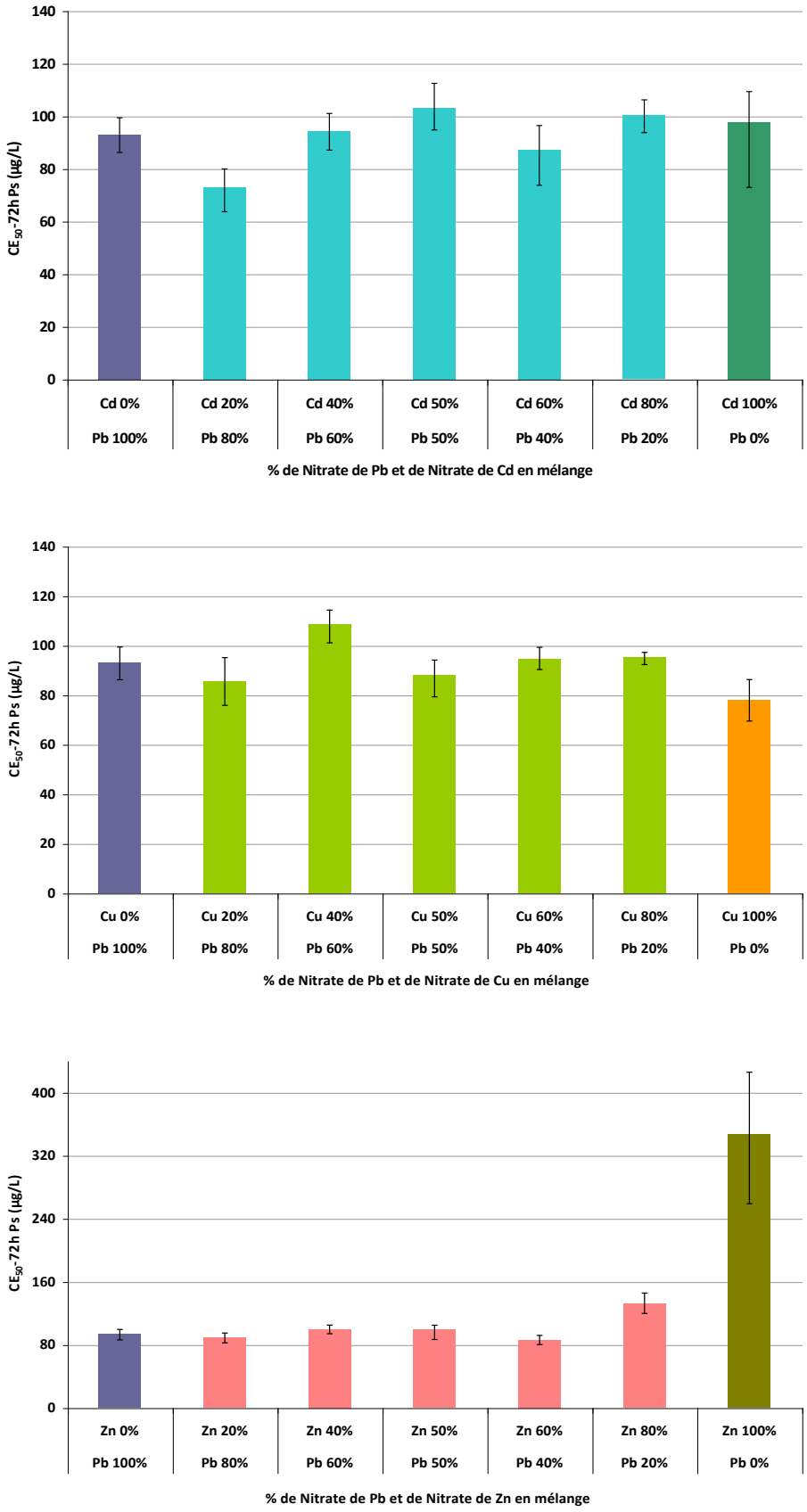


Figure 42 : **CE_{50}-72h et IC95% des mélanges de nitrates métalliques (Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) vis-à-vis de *P. subcapitata***

I.2.3. Bilan des résultats sur l'étude de l'écotoxicité des mélanges binaires étudiés vis-à-vis des deux organismes tests

En dépit des écarts de toxicité qui existent entre les différentes substances testées individuellement vis-à-vis de la daphnie, pour tous les ratios où le nitrate de Cu est majoritaire (Cu 80%) dans un mélange Cd-Cu, Pb-Cu ou Zn-Cu, on constate que les effets de ces ratios sont environ 2 fois plus importants que ceux observés pour le nitrate de Cu seul pour la daphnie. En effet, l'analyse du Tableau 33 fait ressortir le fait que les valeurs de CE_{50}-24h pour ce même ratio (Substance A20-Cu80) pour ces 3 mélanges sont pratiquement équivalentes vis-à-vis de la daphnie.

Le même phénomène est observé pour le mélange NH_4-Cu. En effet, avec 20% de sulfate de NH_4, le mélange $NH_4$20-Cu80 est environ 2,4 fois plus toxique que le nitrate de Cu seul.

Tableau 33 : Mélanges binaires où le nitrate de Cu est majoritaire et qui présentent des effets toxiques pratiquement équivalents vis-à-vis de la daphnie

Mélanges	CE_{50}-24h Dm	
Cd20-Cu80	0,062 mg de sels/L	Cu 100% : CE_{50}-24h Dm = 0,112 mg de sels/L
Pb20-Cu80	0,057 mg de sels/L	
Zn20-Cu80	0,061 mg de sels/L	
$NH_4$20-Cu80	0,047 mg de sels/L	

Par contre, l'essai réalisé avec l'algue Ps, ne permet pas de dégager une tendance générale aussi nette. Cependant, on a pu observer que pour certains mélanges binaires de nitrates métalliques (Cd-Cu, Pb-Cd et Pb-Cu), les effets toxiques ne sont pas directement fonction des concentrations des substances dans le mélange. Par exemple, pour le mélange Cd-Cu, les effets toxiques observés pour les 5 ratios testés sont presqu'équivalents entre eux. Il en est pratiquement de même pour les mélanges Pb-Cd et Pb-Cu.

Pour les mélanges faisant intervenir le nitrate de Zn (Cd-Zn et Zn-Cu), les effets toxiques vis-à-vis de l'algue Ps ont tendance à varier selon les proportions du nitrate de Zn dans le mélange. Le mélange Pb-Zn peut être rattaché à ce dernier groupe, cependant la démarcation reste quand même plus modérée que celle observée pour les deux autres mélanges.

Au bilan, le fait de tester chaque mélange binaire sur la base de différents ratios permet de mieux apprécier les effets possibles de ces mélanges sur les organismes tests utilisés (dans des conditions contrôlées) mais également d'apprécier les grandes tendances en fonction des concentrations de chacun des éléments en présence.

De plus, le fait d'utiliser des types de tests différents (aigu et chronique) et des niveaux trophiques différents (producteur primaire et consommateur primaire) nous fournit des éléments d'information qui permettent d'apprécier les impacts vis-à-vis de ces deux systèmes d'organisation. Cependant, il reste quand même d'autres études à conduire avant de prétendre de cerner correctement les effets de ces substances lorsqu'ils sont en mélange binaire.

I.3. ETUDE DES EFFETS COMBINES DES MELANGES BINAIRES REALISES

Tel que spécifié dans la partie matériels et méthodes, l'étude des effets combinés est réalisée au moyen du modèle des TI, présenté dans la revue bibliographique de ce document (point II.3.2.2.2.3, page 83).

Les valeurs de TI calculées pour chaque ratio des différents mélanges binaires mis en expérimentation sont présentées au moyen de cinq couleurs qui représentent les trois principaux types d'interactions ou d'effets combinés (synergie, additivité ou antagonisme) qui peuvent être mis en évidence en accord avec [Marking, 1977] et [Belkhadir, 1979]. Le Tableau 34 synthétise les effets combinés associés à chacune de ces couleurs ainsi que leurs descriptions.

Tableau 34 : Définition des types d'effets combinés observés sur une base colorimétrique

Types d'effets combinés	Couleur	Valeurs de TI	Description
Synergie	Rouge	TI < 0,5	Synergie si TI très < 0,5 Synergie modérée si TI < mais proche de 0,5
	Orange	TI ∈ [0,5 ; 1[	Synergie légère
Additivité	Jaune	TI = 1	Additif
Antagonisme	Vert clair	TI ∈]1 ; 2]	Antagonisme léger
	Vert	TI > 2	Antagonisme modéré si TI > mais proche de 2 Antagonisme si TI très > 2

Les résultats obtenus sont présentés par type d'organisme test utilisé pour la réalisation des essais en laboratoire.

Nous rappelons pour le lecteur que les formes d'écriture suivantes sont équivalentes : ratio 4:1 du mélange Cd-Cu, Cd80-Cu20 ou encore 80% Cd - 20% Cu. L'une ou l'autre forme d'écriture sera alternativement employée (se référer au Tableau 17, page 115, pour plus de détails).

I.3.1. Effets combinés des mélanges binaires vis-à-vis de *D. magna*

I.3.11. TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna*

La **Figure 43** présente les couleurs associées aux valeurs de TI calculées pour les différents ratios des mélanges binaires de nitrates métalliques étudiés.

L'analyse de cette figure permet de dire que la majeure partie des effets combinés vis-à-vis de la daphnie sont de types synergiques (22/30 ratios) dont 12 appartiennent à la catégorie « synergie

légère ». Deux ratios (2/30 ratios) seulement sont additifs. Les 6 autres ratios restant se partagent en antagonisme léger (4/30 ratios) à modéré (2/30).

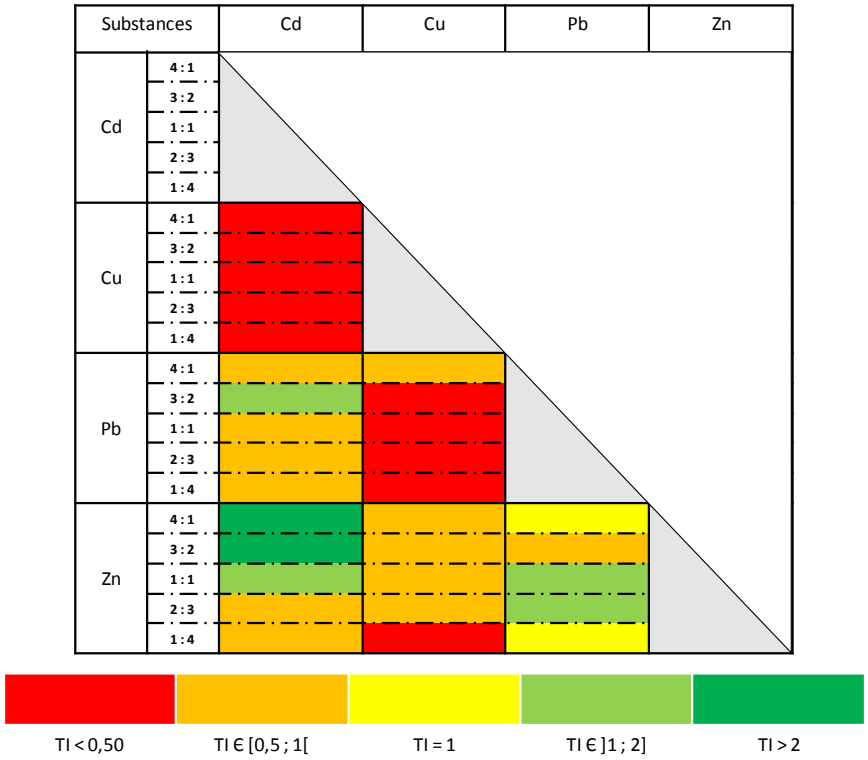


Figure 43 : **TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *D. magna***

Les valeurs de TI qui constituent le groupe « synergie modérée » sont comprises entre 0,32 (Pb40-Cu60) et 0,47 (Pb50-Cu50). Les TI du groupe « synergie légère » sont compris entre 0,51 (Zn60-Cu40) et 0,98 (Pb20-Cd80). Les ratios pour lesquels les effets observés sont de type « additif » sont : Pb20-Zn80 et Pb80-Zn20. En ce qui concerne le groupe « antagonisme léger », les valeurs de TI sont comprises entre 1,17 (Pb60-Zn40) et 1,62 (Pb50-Zn50). Pour le groupe « antagonisme modéré », les valeurs de TI sont comprises entre 2,64 (Cd20-Zn80) et 2,77 (Cd40-Zn60).

On observe également que tous les mélanges binaires avec le nitrate de Cu donnent lieu à au moins un cas d'effet combiné de type synergie. De plus, lorsque le nitrate de Cu est majoritaire (Cu 80%), les effets de type synergie sont toujours « modérée » vis-à-vis de la daphnie.

I.3.12. TI du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna*

La **Figure 44** est la représentation colorimétique des valeurs de TI calculées pour les différents ratios du mélange binaire « sulfate de NH4/nitrate de Cu ».

Cette figure fait ressortir le fait que la totalité des effets combinés vis-à-vis de la daphnie sont de type synergique.

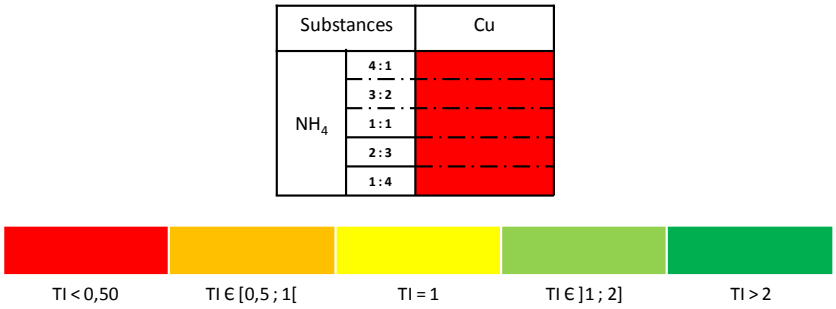


Figure 44 : **TI du mélange sulfate d'ammonium et nitrate de cuivre vis-à-vis de *D. magna***

Sur la base des valeurs de TI calculées pour les 5 ratios testés, les valeurs obtenues classent les effets combinés dans la catégorie « synergie modérée » ou « synergie » au sens strict. Les TI sont compris entre 0,24 ($NH_4$50-Cu50) et 0,41 ($NH_4$80-Cu20).

Tout comme pour certains ratios des mélanges binaires des trois autres nitrates métalliques (Cd, Pb ou Zn) avec le nitrate de Cu, le mélange binaire NH_4-Cu donnent également lieu à des effets de synergie et ceci pour tous les ratios (comme pour Cd-Cu). Lorsque le nitrate de Cu est majoritaire (Cu 80%) dans le mélange NH_4-Cu, la synergie est également de type « modérée » comme pour les cas précédents.

I.3.2. Effets combinés des mélanges binaires vis-à-vis de *P. subcapitata*

I.3.21. TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata*

La Figure 45 est la représentation colorimétique des valeurs de TI calculées pour les différents ratios des mélanges binaires de nitrates métalliques étudiés avec l'essai d'inhibition de la croissance de l'algue Ps.

L'analyse de cette figure permet de dire qu'un peu plus de la moitié des effets combinés vis-à-vis de l'algue Ps sont de types synergiques (16/30 ratios). Un ratio (1/30 ratios) seulement est additif. Les autres ratios restants correspondent à des effets combinés antagonistes (13/30 ratios). Notons toutefois, que dans l'un et l'autre cas, les effets sont plutôt légers.

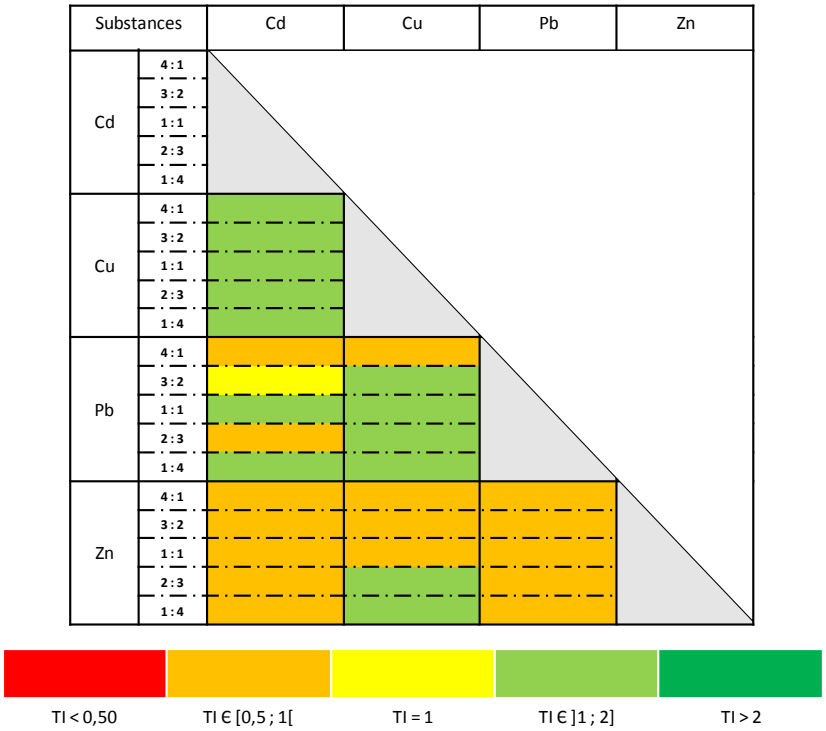


Figure 45 : **TI des mélanges de nitrates métalliques vis-à-vis de *P. subcapitata***

Les valeurs de TI qui constituent le groupe « synergie légère » sont comprises entre 0,52 (Pb40-Zn60) et 0,97 (Cd40-Zn60). Le ratio pour lequel les effets observés sont de type « additif » est : Pb60-Cd40. En ce qui concerne le groupe « antagonisme léger », les valeurs de TI sont comprises entre 1,03 (Zn40-Cu60) et 1,29 (Cd60-Cu40).

On observe également que tous les mélanges binaires avec le nitrate de Cu donnent lieu à au moins un cas d'antagonisme des effets combinés. De plus, lorsque le nitrate de Cu est majoritaire (Cu 80%), l'antagonisme des effets combinés est toujours de type « léger » vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps.

I.3.3. Bilan des résultats de l'étude des effets combinés des mélanges binaires

Les valeurs de TI calculés pour les ratios des différents mélanges binaires étudiés donnent lieu aux trois types d'effets (synergie, additivité, antagonisme) en conformité avec le modèle des TI, développé par [Marking, 1977] et [Belkhadir, 1979].

En ce qui concerne les essais réalisés avec la daphnie, et pour l'ensemble des essais ne portant que sur des mélanges binaires de nitrates métalliques, on aboutit à des valeurs de TI comprises entre 0,32 et 2,77. Pour les expérimentations réalisées sur le mélange sulfate de NH_4-nitrate de Cu, les valeurs de TI sont comprises entre 0,24 et 0,41. Il a également été observé que lorsque le nitrate de Cu est majoritaire dans le mélange binaire (Cu 80%), les effets observés correspondent systématiquement à des « synergies modérées ».

Pour la totalité des mélanges binaires étudiés, les essais portant sur la croissance de l'algue Ps ne mettent pas en évidence d'effets combinés de type « synergie modérée » (TI < 0,5) ou « antagonisme modéré » (TI > 2) puisque les valeurs de TI obtenues sont comprises entre 0,52 et 1,29. Il a également été observé que lorsque le nitrate de Cu est majoritaire dans le mélange binaire (Cu 80%), les effets observés correspondent systématiquement à des « antagonismes légers ».

Pour les mélanges binaires entre nitrates métalliques, la présence du nitrate de Cu dans le mélange conduit dans la majorité des cas à observer une « synergie modérée » des effets combinés vis-à-vis de la daphnie tandis que ceux observés vis-à-vis de la croissance de l'algue se traduisent par un « léger antagonisme », ceci pratiquement pour les mêmes ratios.

I.4. SPECIATION

Les paragraphes suivants présentent une synthèse des principaux résultats pour les calculs théoriques de spéciation réalisés au moyen du code de calcul PHREEQC. Les choix réalisés ainsi que la procédure adoptée ont été présentés dans les matériels et méthodes (paragraphe I.5, page 120). Nous présenterons, d'abord, les résultats pour les substances seules vis-à-vis de chaque organisme (*D. magna* puis *P. subcapitata*) qui seront suivis des résultats obtenus pour chaque ratio 1:1 des différents mélanges binaires vis-à-vis de ces mêmes organismes (*D. magna* puis *P. subcapitata*).

Les résultats ne présentent que les espèces chimiques prédominantes en solution que l'on retrouve dans les différentes solutions d'essai, à l'équilibre avec les phases solides qui peuvent précipiter. Ces derniers sont présentés sous la forme de pourcentage par rapport à la concentration totale initiale de l'élément chimique concerné. Les valeurs de pH, à l'équilibre, sont également présentées.

Les valeurs numériques des concentrations utilisées pour la réalisation des calculs de spéciation (plus faible et plus forte concentration des gammes de dilutions testées) sont présentées en annexe de ce document (Annexe E).

I.4.1. Cas des substances

I.4.11. Résultats de la spéciation des solutions testées vis-à-vis de *D. magna*

Le Tableau 35 (page 241) présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour les différentes solutions testées seules vis-à-vis de *D. magna*. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, de la solution de substance seule avec le milieu daphnie.

De manière générale, les valeurs de pH théorique sont comprises entre 6 et 8. La solution de nitrate de Pb est celle qui présente les valeurs de pH les plus faibles (6,41 - 7,90) pour la gamme de dilutions testée. Sinon, pour les autres solutions, les valeurs de pH sont comprises entre 7,5 et 8,04, en fonction de leur gamme de dilutions respective, ce qui traduit un caractère basique pour les deux concentrations extrêmes de la gamme testée. Par contre pour le nitrate de Pb, on part d'un état légèrement acide (plus forte concentration de la gamme) pour aboutir à un état basique (plus faible concentration testée).

En ce qui concerne les espèces chimiques en solution, l'ion libre de l'élément concerné est toujours la forme prépondérante, à l'exception du Cu où c'est le complexe $CuCO_3$ qui est majoritaire. On constate que, pour le nitrate de Cd et le nitrate de Cu, les valeurs de pH sont constantes pour les deux concentrations extrêmes de la gamme de dilutions testée. On remarque également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés dans chacun de ces cas demeurent pratiquement équivalentes pour les deux concentrations extrêmes.

Par contre, pour le nitrate de Pb, le nitrate de Zn, la variation des concentrations fait également varier les valeurs de pH. On observe également une variation significative dans le cas du nitrate de Pb en termes de proportions en ion libre et en complexes formés pour les deux concentrations

extrêmes de la gamme testée. Cette même observation s'applique au nitrate de Zn mais dans une moindre mesure.

Pour le sulfate de NH_4, la variation des concentrations fait également varier les valeurs de pH. En ce qui concerne les proportions en ion libre, on n'observe pas une grande variation entre les deux concentrations extrêmes. Par contre, pour les complexes formés, la variation des concentrations influencent la concentration du $NH_4SO_4^-$ et celle du NH_3 en solution.

Tableau 35 : Solution de substance seule - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna*

	Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	Nitrate Cd	
pH (calculé)	8,04	8,04
Cd+2	73,11%	72,61%
CdCl+	19,01%	19,52%
CdSO4	3,15%	3,21%
CdCO3	3,10%	3,02%
	Nitrate Cu	
pH (calculé)	8,04	8,04
Cu+2	6,57%	6,64%
CuCO3	71,44%	71,31%
CuOH+	17,25%	17,32%
Cu(OH)2	3,44%	3,44%
	Nitrate Pb	
pH (calculé)	6,41	7,90
Pb+2	83,34%	16,81%
PbCl+	7,02%	1,61%
PbOH+	4,22%	25,84%
PbSO4	3,52%	1,49%
PbHCO3+	0,60%	3,65%
PbCO3	0,26%	49,62%
	Nitrate Zn	
pH (calculé)	7,57	8,03
Zn+2	91,27%	78,81%
ZnSO4	3,45%	3,21%
ZnOH+	2,61%	6,53%
ZnCO3	1,13%	8,17%
Zn(OH)2	0,14%	1,01%
	Sulfate NH4	
pH (calculé)	7,57	7,91
NH4+	93,10%	94,16%
NH4SO4-	5,26%	2,06%
NH3	1,63%	3,78%

I.4.12. Résultats de la spéciation des solutions testées vis-à-vis de *P. subcapitata*

Le Tableau 36 présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour les différentes solutions testées seules vis-à-vis de *P. subcapitata*. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, de la solution de substance seule avec l'eau et le concentré nutritif.

De manière générale, le pH théorique est de 8,06 quelle que soit la solution de nitrate métallique testée. Cette valeur de pH reste stable pour les deux concentrations extrêmes de la gamme de dilutions testée.

En ce qui concerne les espèces chimiques en solution, le complexe de l'élément concerné avec l'EDTA est toujours la forme prépondérante. Pour le nitrate de Cu et le nitrate de Pb, les résultats indiquent que les proportions en ion libre sont nulles pour chacun de ces métaux, pour les deux cas de figure simulés (plus forte et plus faible concentration de la gamme de dilutions testée).

Tableau 36 : Solution de substance seule - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata*

	Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	Nitrate Cd	
pH (calculé)	8,06	8,06
Cd+2	0,05%	0,03%
Cd(EDTA)-2	99,94%	99,97%
	Nitrate Cu	
pH (calculé)	8,06	8,06
Cu+2	0,00%	0,00%
Cu(EDTA)-2	99,98%	99,98%
	Nitrate Pb	
pH (calculé)	8,06	8,06
Pb+2	0,00%	0,00%
Pb(EDTA)-2	99,99%	99,99%
	Nitrate Zn	
pH (calculé)	8,06	8,06
Zn+2	0,32%	0,07%
Zn(EDTA)-2	99,58%	99,90%

I.4.2. Cas des mélanges binaires

I.4.21. Résultats de la spéciation des mélanges binaires testés vis-à-vis de *D. magna*

Les principaux résultats des calculs de spéciation pour les mélanges binaires Cd-Cu, Cd-Zn et Zn-Cu sont synthétisés dans le Tableau 37 (page 244). Ce tableau présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) de chacun de ces 3 mélanges binaires testé vis-à-vis de *D. magna*. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, du mélange binaire avec le milieu daphnie.

De manière générale, les valeurs de pH théorique sont de 8,04 pour les deux concnetrations extrêmes du ratio 1:1 des mélanges binaires testés, quelque soit le mélange binaire concerné (Cd-Cu ou Cd-Zn ou Zn-Cu).

Pour les espèces chimiques en solution, l'ion libre de l'élément concerné est toujours la forme prépondérante dans les solutions d'essai, à l'exception du Cu où c'est le complexe $CuCO_3$ qui est majoritaire. Dans les conditions de l'essai, l'ion Cu semble présenter une plus grande affinité à former des complexes avec le ligand CO_3^{2-} suivi du ligand (OH^-) même en présence d'ions Cd ou Zn qui sont susceptibles de former des complexes avec ces mêmes ligands. Le Cd présente une affinité à former des complexes avec le ligand chlorure (Cl^-) alors que ce n'est pas le cas pour les 3 autres métaux.

On remarque également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés dans chacun de ces cas demeurent pratiquement équivalentes entre les deux concentrations extrêmes des gammes de dilutions testées pour ces 3 mélanges binaires (Cd-Cu, Cd-Zn, Zn-Cu).

Tableau 37 : Mélanges binaires (Cd-Cu ; Cd-Zn ; Zn-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna*

	Répartition par rapport à la concentration initiale			Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**	**Espèces chimiques**	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate Cd			**Nitrate Cu**	
Cd+2	72,92%	72,59%	Cu+2	6,53%	6,64%
CdCl+	19,18%	19,53%	CuCO3	71,53%	71,32%
CdSO4	3,18%	3,22%	CuOH+	17,21%	17,31%
CdCO3	3,09%	3,02%	Cu(OH)2	3,45%	3,44%
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Zn				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate Cd			**Nitrate Zn**	
Cd+2	73,52%	72,83%	Zn+2	78,28%	78,55%
CdCl+	18,56%	19,29%	ZnSO4	3,08%	3,21%
CdSO4	3,10%	3,19%	ZnOH+	6,70%	6,59%
CdCO3	3,21%	3,07%	ZnCO3	8,63%	8,35%
	50% Nitrate Zn + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate Zn			**Nitrate Cu**	
Zn+2	78,43%	78,64%	Cu+2	6,49%	6,64%
ZnSO4	3,17%	3,25%	CuCO3	71,60%	71,32%
ZnOH+	6,63%	6,56%	CuOH+	17,17%	17,32%
ZnCO3	8,45%	8,25%	Cu(OH)2	3,45%	3,44%

Pour les mélanges binaires Pb-Cd, Pb-Cu et Pb-Zn, les principaux résultats des calculs de spéciation sont synthétisés dans le Tableau 38 (page 245). Ce tableau présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) de chacun de ces 3 mélanges binaires testé vis-à-vis de *D. magna*. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, du mélange binaire avec le milieu daphnie.

Les valeurs de pH théorique pour les ratios 1:1 de ces trois mélanges binaires sont comprises entre 6 et 8. Le mélange binaire Pb50-Zn50 est celui pour lequel on a obtenu la valeur de pH la plus faible (6,92) pour la gamme plus forte concentration de la gamme de dilutions testée. Pour la plus faible concentration de la gamme de dilutions testée pour Pb50-Zn50, son pH théorique est de 8,03. Sinon, pour Pb50-Cd50 et Pb50-Cu50, leur pH théorique est de 8,04 pour les deux concentrations extrêmes de leur gamme de dilutions respective, en fonction de leur gamme de dilutions respective.

Pour les espèces chimiques en solution, les calculs indiquent que l'ion libre de l'élément concerné n'est pas toujours la forme prépondérante dans la solution d'essai. En effet, selon le mélange binaire

(Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) et selon la concentration (la plus forte ou la plus faible) de la gamme de dilution, les espèces chimiques prépondérantes se partagent entre : (i) l'ion libre (Cd ; Zn ; la plus forte concentration pour Pb50-Zn50) ; (ii) le complexe avec le ligand CO_3^{2-} (Pb dans Pb50-Cd50 ; Pb et Cu dans Pb50-Cu50 ; la plus faible concentration pour Pb50-Zn50), mais également, (iii) les complexes avec les ligands OH^-, Cl^-, ….

On constate également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés dans chacun de ces cas demeurent pratiquement équivalentes entre les deux concentrations extrêmes des gammes de dilutions testées pour ces mélanges binaires à l'exception du mélange Pb-Zn. Cette variation entre les concentrations extrêmes de la gamme testée est également observée pour les valeurs de pH théorique.

Tableau 38 : Mélanges binaires (Pb-Cd ; Pb-Cu ; Pb-Zn) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna*

	Répartition par rapport à la concentration initiale			Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**	**Espèces chimiques**	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cd				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate Pb			**Nitrate Cd**	
Pb+2	10,68%	10,88%	Cd+2	73,15%	72,58%
PbCO3	60,01%	59,59%	CdCl+	18,96%	19,56%
PbOH+	22,67%	22,78%	CdSO4	3,15%	3,22%
PbHCO3+	3,20%	3,22%	CdCO3	3,12%	3,01%
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate Pb			**Nitrate Cu**	
Pb+2	10,76%	10,87%	Cu+2	6,56%	6,64%
PbCO3	59,84%	59,62%	CuCO3	71,47%	71,32%
PbOH+	22,71%	22,77%	CuOH+	17,24%	17,31%
PbHCO3+	3,21%	3,22%	Cu(OH)2	3,44%	3,44%
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Zn				
pH (calculé)	6,92	8,03			
	Nitrate Pb			**Nitrate Zn**	
Pb+2	72,00%	10,96%	Zn+2	95,23%	78,79%
PbCO3	2,34%	59,47%	ZnSO4	3,13%	3,21%
PbOH+	11,61%	22,83%	ZnOH+	0,61%	6,53%
PbHCO3+	1,64%	3,23%	ZnCO3	0,06%	8,18%
PbCl+	5,81%	1,08%			
PbSO4	5,30%	1,00%			

Le Tableau 39 présente les principaux résultats des calculs de spéciation pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) du mélange binaire NH_4-Cu testé vis-à-vis de *D. magna*. Ce tableau regroupe la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour ce ratio. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, du mélange binaire avec le milieu daphnie.

Les valeurs de pH théorique pour le ratio 1:1 du mélange binaire NH_4-Cu est de 8,04 pour les deux concentrations extrêmes de la gamme de dilutions testée.

Pour les espèces chimiques en solution, les calculs indiquent que l'ion libre NH_4^+ est l'espèce chimique prépondérante dans la solution d'essai, suivi des complexes $CuCO_3$ et $CuOH^+$. Le cation Cu^{2+} et le NH3 sont en proportions nettement moins importantes dans la solution d'essai que les espèces chimiques cités précédemment.

On constate également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés dans chacun de ces cas demeurent pratiquement équivalentes entre les deux concentrations extrêmes de la gamme de dilutions testée pour le ratio 1:1 du mélange binaire NH_4-Cu.

Tableau 39 : Mélanges binaires (NH4-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *D. magna*

	Répartition par rapport à la concentration initiale			**Répartition par rapport à la concentration initiale**	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**	**Espèces chimiques**	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	50% Sulfate NH4 + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,04	8,04			
	Nitrate NH4			**Nitrate Cu**	
NH4+	94,40%	94,42%	Cu+2	6,56%	6,59%
NH3	5,31%	5,30%	CuCO3	70,74%	71,68%
			CuOH+	17,14%	17,17%
			Cu(OH)2	3,41%	3,41%

I.4.22. Résultats de la spéciation des mélanges binaires testés vis-à-vis de *P. subcapitata*

Les principaux résultats des calculs de spéciation pour les mélanges binaires Cd-Cu, Cd-Zn et Zn-Cu sont synthétisés dans le Tableau 40. Ce tableau présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) de chacun de ces 3 mélanges binaires testé vis-à-vis de l'algue *P. subcapitata*. Ces calculs concernent les milieux d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, du mélange binaire avec l'eau et le concentré nutritif.

De manière générale, les valeurs de pH théorique sont de 8,06 pour les deux concentrations extrêmes du ratio 1:1 des mélanges binaires testés, quel que soit le mélange binaire concerné (Cd-Cu ou Cd-Zn ou Zn-Cu).

En ce qui concerne les espèces chimiques en solution, le complexe de l'élément concerné avec l'EDTA est toujours la forme prépondérante dans la solution d'essai, tout comme cela a été observé pour les calculs réalisés pour les solutions seules (voir Tableau 36, page 242). Pour les mélanges binaires avec le Cu (Cd-Cu et Zn-Cu), les résultats indiquent que les proportions en cation Cu^{2+} (ion libre) sont nulles pour les deux cas de figure simulés (plus forte et plus faible concentration des gammes de dilutions testée). Pour les cations Cd^{2+} et Zn^{2+}, leurs proportions sont globalement comprises entre 0,03% et 0,10% dans les solutions d'essai des différentes gammes testées.

On constate également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés dans chacun de ces cas demeurent pratiquement équivalentes entre les deux concentrations extrêmes des gammes de dilutions testées pour ces mélanges binaires à l'exception des mélanges contenant du Zn (Cd-Zn et Zn-Cu).

Tableau 40 : Mélanges binaires (Cd-Cu ; Cd-Zn ; Zn-Cu) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata*

	Répartition par rapport à la concentration initiale			Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**	**Espèces chimiques**	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Cd			**Nitrate Cu**	
Cd+2	0,04%	0,03%	Cu+2	0,00%	0,00%
Cd(EDTA)-2	99,96%	99,97%	Cu(EDTA)-2	99,98%	99,98%
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Zn				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Cd			**Nitrate Zn**	
Cd+2	0,06%	0,03%	Zn+2	0,10%	0,05%
Cd(EDTA)-2	99,93%	99,97%	Zn(EDTA)-2	99,86%	99,93%
	50% Nitrate Zn + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Zn			**Nitrate Cu**	
Zn+2	0,07%	0,04%	Cu+2	0,00%	0,00%
Zn(EDTA)-2	99,90%	99,94%	Cu(EDTA)-2	99,98%	99,98%

Pour les mélanges binaires Pb-Cd, Pb-Cu et Pb-Zn, les principaux résultats des calculs de spéciation réalisés pour ces mélanges sont synthétisés dans le Tableau 41. Ce tableau présente la distribution des espèces chimiques ainsi que les valeurs de pH, à l'équilibre, pour le ratio 1:1 (substance A 50%-substance B 50%) de chacun de ces 3 mélanges binaires testé vis-à-vis de l'algue *P. subcapitata*. Ces calculs concernent les solutions d'essai, c'est-à-dire les dilutions, dans les proportions requises, du mélange binaire avec le concentré nutritif.

Les valeurs de pH théorique sont de 8,06 pour les deux concentrations extrêmes du ratio 1:1 des mélanges binaires testés, quelque soit le mélange binaire concerné (Pb-Cd ou Pb-Cu ou Pb-Zn).

Pour les espèces chimiques en solution, le complexe de l'élément concerné avec l'EDTA est toujours la forme prépondérante dans la solution d'essai, tout comme cela a été observé pour les calculs réalisés pour les autres solutions d'essai testées vis-à-vis de l'algue *P. subcapitata* (voir le Tableau 36, page 242 et le Tableau 40, page 248). Pour tous les mélanges binaires avec le Pb, les résultats indiquent que les proportions en cation Pb^{2+} (ion libre) sont toujours nulles pour les deux cas de figure simulés (plus forte et plus faible concentration des gammes de dilutions testée). Il en est de même pour le cation Cu^{2+} dans le mélange Pb-Cu. Pour les cations Cd^{2+} et Zn^{2+}, leurs proportions sont globalement comprises entre 0,03% et 0,06% dans les solutions d'essai des différentes gammes testées.

On observe également que les proportions respectives en ion libre et en complexes formés pour chacun de ces mélanges binaires (Pb-Cd, Pb-Cu, Pb-Zn) demeurent pratiquement équivalentes entre les deux concentrations extrêmes des gammes de dilutions testées.

Tableau 41 : Mélanges binaires (Pb-Cd ; Pb-Cu ; Pb-Zn) - Distribution des espèces chimiques prédominantes pour deux concentrations de chaque gamme de dilution testée vis-à-vis de *P. subcapitata*

	Répartition par rapport à la concentration initiale			Répartition par rapport à la concentration initiale	
Espèces chimiques	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**	**Espèces chimiques**	**Plus forte concentration**	**Plus faible concentration**
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cd				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Pb			**Nitrate Cd**	
Pb+2	0,00%	0,00%	Cd+2	0,04%	0,03%
Pb(EDTA)-2	99,99%	99,99%	Cd(EDTA)-2	99,95%	99,96%
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cu				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Pb			**Nitrate Cu**	
Pb+2	0,00%	0,00%	Cu+2	0,00%	0,00%
Pb(EDTA)-2	99,99%	99,99%	Cu(EDTA)-2	99,98%	99,98%
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Zn				
pH (calculé)	8,06	8,06			
	Nitrate Pb			**Nitrate Zn**	
Pb+2	0,00%	0,00%	Zn+2	0,06%	0,05%
Pb(EDTA)-2	99,99%	99,99%	Zn(EDTA)-2	99,91%	99,93%

I.5. CONTRIBUTION DES RESULTATS DES CALCULS DE SPECIATION A LA COMPREHENSION DES EFFETS TOXIQUES OBSERVES

Sur la base des gammes de dilutions testées pour les substances et mélanges binaires étudiés, les résultats des calculs de spéciation permettent de constater que la concentration en ion libre pour un métal donné varie très peu entre la plus forte et la plus faible concentration testée. Les seules exceptions à cette constatation concernent le nitrate de Pb aussi bien quand il est testé seul que lorsqu'il est en mélange binaire avec le Zn (Pb50-Zn50) vis-à-vis de *D. magna* et le nitrate de Zn aussi bien quand il est testé seul que lorsqu'il est en mélange binaire avec le Cd (Cd50-Zn50) vis-à-vis de *P. subcapitata*.

I.5.1. Cas des substances

En prenant en compte cette constation, on peut essayer de dégager, pour certains métaux, un pourcentage moyen en termes de concentration en ion libre dans les solutions seules testées. Avec ce pourcentage moyen, il est possible d'estimer les concentrations en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50} obtenues dans le cadre des essais mis en œuvre vis-à-vis des 2 organismes tests utilisés (daphnie et algue Ps). Cet exercice n'a pas été réalisé pour le Pb en ce qui concerne le test daphnie ni pour le Zn en ce qui concerne le test algue Ps, en raison de la différence significative qui existe entre le pourcentage en ion libre pour la plus forte concentration et celui pour la plus faible concentration.

Tableau 42 : Estimation, au moyen des résultats des calculs de spéciation, de la concentration en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50}-24h expérimentales obtenues pour les solutions testées vis-à-vis de *D. magna*

Espèces chimiques	Pourcentage moyen en ion libre	CE_{50}-24h Dm (mg de sel/L)	CE_{50}-24h Dm (mg d'ion libre/L)
	Nitrate Cd		
Cd^{2+}	72,86%	1,4	1,02 mg Cd^{2+}/L
	Nitrate Cu		
Cu^{2+}	6,61%	0,11	0,007 mg Cu^{2+}/L
	Nitrate Pb		
Pb^{2+}	-	139,5	-
	Nitrate Zn		
Zn^{2+}	85,04%	40,4	34,36 mg Zn^{2+}/L
	Sulfate NH4		
NH_4^+	93,63%	948,0	887,61 mg NH_4^+/L

Les résultats figurant dans le Tableau 42 permettent de dire qu'il semble que l'ion libre soit le principal responsable de la toxicité observée en ce qui concerne le nitrate de Cd, le nitrate de Zn et le sulfate de NH4 vis-à-vis de la daphnie. Par contre, en ce qui concerne le nitrate de Cu, deux hypothèses peuvent être émises : la première hypothèse serait de dire que le Cu^{2+} semble être toxique à de très faible concentration ; la seconde hypothèse serait de dire, qu'outre le Cu^{2+}, il y a

d'autres complexes métalliques solubles qui contribuent à la toxicité observée pour le nitrate de Cu vis-à-vis de la daphnie.

En procédant aux calculs de pourcentage moyen en ion libre pour les sels utilisés pour les essais vis-à-vis de l'algue Ps, on aboutit aux résultats figurant dans le tableau ci-dessous (Tableau 43).

Tableau 43 : Estimation, au moyen des résultats des calculs de spéciation, de la concentration en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50}-72h expérimentales obtenues pour les solutions testées vis-à-vis de *P. subcapitata*

Espèces chimiques	Pourcentage moyen en ion libre	CE_{50}-72h Ps (µg de sel/L)	CE_{50}-72h Ps (µg d'ion libre/L)
	Nitrate Cd		
Cd^{2+}	0,04%	97,7	0,039 µg Cd^{2+}/L
	Nitrate Cu		
Cu^{2+}	0%	77,9	0 µg Cu^{2+}/L
	Nitrate Pb		
Pb^{2+}	0%	92,9	0 µg Pb^{2+}/L
	Nitrate Zn		
Zn^{2+}	-	347,0	-

En tout premier lieu, les résultats figurant dans ce tableau (Tableau 43) présentent une estimation chiffrée des concentrations en ion libre correspondant aux valeurs de CE_{50}-72h observées vis-à-vis de l'algue Ps. Ainsi, on constate que les ions métalliques libres ne représentent pas les formes majoritaires dissoutes en ce jeu permettant d'expliquer les valeurs de CE_{50}-72h expérimentales obtenues vis-à-vis de l'algue Ps. De ce fait on peut émettre l'hypothèse d'une contribution significative de certains complexes métalliques solubles formés dont notamment les complexes formés avec l'EDTA dans la toxicité observée vis-à-vis de l'algue Ps. Pour les nitrates de Cu et de Pb, il semblerait même que les complexes métalliques formés avec l'EDTA soient essentiellement responsables des effets toxiques observés.

I.5.2. Cas des mélanges

Tout comme pour le cas des substances seules, on a également essayé de dégager, pour le ratio 1:1 de certains mélanges binaires, un pourcentage moyen en termes de concentration en ion libre dans les solutions seules testées. Cet exercice n'a pas été réalisé pour le mélange binaire Pb50-Zn50 en ce qui concerne le test daphnie et le mélange binaire Cd50-Zn50 en ce qui concerne le test algue Ps, en raison de la différence significative qui existe entre le pourcentage en ion libre pour la plus forte concentration et celui pour la plus faible concentration.

Les résultats obtenus en ce qui concerne les mélanges binaires testés vis-à-vis de la daphnie sont présentés dans le Tableau 44. Ce tableau reprend également les informations relatives aux CE_{50}-24h expérimentales obtenues vis-à-vis de la daphnie ainsi que les informations sur les effets combinés mis en évidence pour chacun de ces mélanges binaires.

Tableau 44 : Appréciation des effets combinés observés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis de *D. magna* au moyen des résultats des calculs de spéciation

Espèces chimiques	Pourcentage moyen en ion libre	CE_{50}-24h Dm (mg de sels/L)	Valeur de TI	Type d'effets combinés
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Cu			
Cd^{2+}	72,76%	0,09	0,42	Synergie modérée
Cu^{2+}	6,59%			
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Zn			
Cd^{2+}	73,18%	3,78	1,37	Antagonisme léger
Zn^{2+}	78,42%			
	50% Nitrate Zn + 50% Nitrate Cu			
Zn^{2+}	78,54%	0,13	0,59	Synergie modérée
Cu^{2+}	6,57%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cd			
Pb^{2+}	10,78%	1,76	0,62	Synergie modérée
Cd^{2+}	72,87%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cu			
Pb^{2+}	10,82%	0,11	0,47	Synergie modérée
Cu^{2+}	6,60%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Zn			
Pb^{2+}	-	101,33	1,62	Antagonisme léger
Zn^{2+}	-			
	50% Sulfate NH4 + 50% Nitrate Cu			
NH_4^+	94,41%	0,05	0,24	Synergie
Cu^{2+}	6,58			

Les résultats de l'étude de l'écotoxicité de chacune des substances seules testées vis-à-vis de la daphnie avait conduit au classement suivant des sels, sur une base décroissante : $Cu(NO_3)_2 > Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 > (NH_4)_2SO_4$, où le $Cu(NO_3)_2$ est le sel le plus toxique et le $(NH_4)_2SO_4$ est le sel le moins toxique.

En analysant les données figurant dans le Tableau 44, et en prenant le cas du nitrate de Cu à titre d'exemple, on constate que pour tous les mélanges binaires ou le $Cu(NO_3)_2$ est présent les effets toxiques observés s'apparentent à ceux du Cu seul en dépit du fait que le Cu^{2+} ne semble pas être majoritaire dans le mélange.

Les résultats figurant dans ce tableau incitent à approfondir les questionnements, d'une part, sur l'éventuelle contribution des complexes solubles formés dans ces mélanges aux effets toxiques mis en évidence. Dans un second temps, on pourrait également s'intéresser au mode d'action de ces substances lorsqu'elles sont en mélange, afin de mieux comprendre les effets combinés mis en évidence.

Le Tableau 45 présente les résultats concernant les pourcentages moyens d'ion libre calculé pour chacun des sels utilisés dans la préparation des mélanges binaires testés vis-à-vis de l'algue Ps. Ce tableau reprend également les informations relatives aux CE_{50}-72h expérimentales obtenues vis-à-vis

de l'algue Ps ainsi que les informations sur les effets combinés mis en évidence pour chacun de ces mélanges binaires.

Tableau 45 : Appréciation des effets combinés observés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis de *P. subcapitata* au moyen des résultats des calculs de spéciation

Espèces chimiques	Pourcentage moyen en ion libre	CE_{50}-72h Ps (µg de sels/L)	Valeur de TI	Effets combinés observés
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Cu			
Cd^{2+}	0,035%	103,75	1,20	Antagonisme léger
Cu^{2+}	0%			
	50% Nitrate Cd + 50% Nitrate Zn			
Cd^{2+}	-	137,75	0,90	Synergie légère
Zn^{2+}	-			
	50% Nitrate Zn + 50% Nitrate Cu			
Zn^{2+}	0,06%	113,55	0,89	Synergie légère
Cu^{2+}	0%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cd			
Pb^{2+}	0%	103,13	1,08	Antagonisme léger
Cd^{2+}	0,035%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Cu			
Pb^{2+}	0%	88,18	1,04	Antagonisme léger
Cu^{2+}	0%			
	50% Nitrate Pb + 50% Nitrate Zn			
Pb^{2+}	0%	98,60	0,67	Synergie légère
Zn^{2+}	0,055%			

Les résultats de l'étude de l'écotoxicité de chacune des substances seules testées vis-à-vis de l'algue PS avait conduit au classement suivant des sels, sur une base décroissante : $Cu(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 \approx Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2$, où le $Cu(NO_3)_2$ est le sel métallique le plus toxique et le $Zn(NO_3)_2$ est le sel métallique le moins toxique.

L'analyse des données figurant dans le Tableau 45, permet de dire, tout comme cela a été observé dans le cas des calculs effectués pour les substances seules, que les ions libres ne semblent pas être les seuls responsables des effets toxiques mis en évidence pour les mélanges binaires testés. Et dans certains cas (Cu^{2+} et Pb^{2+}), les complexes métalliques solubles semblent être les principales formes biodisponibles.

De ce fait, il serait intéressant d'approfondir les questionnements, d'une part, sur la biodisponibilité des complexes solubles formés (surtout ceux formés avec l'EDTA) par rapport aux effets toxiques mis en évidence. D'autre part, on pourrait également s'intéresser au mode d'action de ces substances lorsqu'elles sont en mélange, en vue de mieux comprendre les effets combinés mis en évidence dans le cadre de cette étude.

I.6. SYNTHESE GENERALE SUR L'ETUDE DE L'ECOTOXICITE ET DES EFFETS COMBINES DES POLLUANTS ETUDIES

Les substances utilisées dans le cadre de cette étude sont les nitrates de 4 éléments métalliques (Cd, Cu, Pb, Zn) et le sulfate de NH_4. Tous les nitrates métalliques ont été testés vis-à-vis de *D. magna* et de *P. subcapitata*, dans des conditions contrôlées. L'étude de l'écotoxicité du sulfate de NH_4 a été réalisée uniquement vis-à-vis de *D. magna*. Par la suite, on s'est intéressé à l'étude de l'écotoxicité et à la mise en évidence d'effets combinés pour ces mêmes substances lorsqu'elles sont en mélange binaires et en faisant varier leurs proportions dans ces différents mélanges binaires. On a conclu notre étude par des calculs de spéciation réalisés, tant pour les substances que pour les mélanges binaires, pour les essais avec les 2 organismes utilisés. Ces calculs ont été réalisés uniquement pour les ratios 1:1 des solutions d'essai testées.

Cette démarche nous a permis de dégager les principales conclusions suivantes :

- <u>vis-à-vis de la mobilité du crustacé *D. magna*</u> :
  - le nitrate de Cu est la substance la plus écotoxique pour *D. magna* avec une CE_{50}-24h de 0,11 mg de $Cu(NO_3)_2$/L. Les CE_{50}-24h respectives des substances testées permet de les classer dans l'orde suivant, sur la base d'une écotoxicité décroissante : $Cu(NO_3)_2 > Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 > (NH_4)_2SO_4$;
  - pour les différents mélanges binaires contenant du nitrate de Cu, les résultats révèlent qu'en comparant les effets toxiques observés pour les mélanges « Substance 20%-Cu80% » et ceux observés pour Cu 100%, on constate que les effets toxiques pour les mélanges « Substance 20%-Cu80% » sont, globalement, 2 fois plus importants que ceux observés pour Cu 100% ;
  - tous les mélanges binaires avec le nitrate de Cu donnent lieu à au moins un cas de synergie vis-à-vis de la daphnie. Globalement, les effets observés sont de nature « légers » ou « modérés » ;
  - en ce qui concerne la spéciation, les pH théoriques sont compris entre 6 et 8, et :
    - dans le cas des substances seules, l'espèce chimique prépondérante dans les solutions d'essais est toujours l'ion libre de l'élément concerné, à l'exception du Cu où c'est le complexe $CuCO_3$ qui est prépondérant ;
    - pour les mélanges binaires, l'espèce chimique prépondérante dans les solutions d'essais est l'ion libre de l'élément concerné, à l'exception du Cu dans les mélanges Cd-Cu, Zn-Cu, Pb-Cu et NH_4-Cu où c'est le complexe $CuCO_3$ qui est prépondérant et du Pb dans les mélanges Pb-Cd où c'est le complexe $PbCO_3$ qui est prépondérant ;
- <u>vis-à-vis de la croissance de l'algue *P. subcapitata*</u> :
  - tout comme pour l'essai avec *D. magna*, c'est le nitrate de Cu qui se révèle la substance la plus écotoxique pour *P. subcapitata* avec une CE_{50}-72h de 77,9 µg de $Cu(NO_3)_2$/L. Les CE_{50}-72h respectives des substances testées permettent de les classer dans l'orde suivant, sur la base d'une écotoxicité décroissante : $Cu(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 \approx Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2$;
  - les CE_{50}-72h obtenues pour les mélanges binaires Cd-Cu, Pb-Cd et Pb-Cu testés vis-à-vis de *P. subcapitata* ne permettent pas de mettre en évidence une tendance nette des effets

toxiques ni en fonction des substances en mélange ni en fonction des différents ratios testés. Par contre, pour les mélanges binaires avec le Zn (Cd-Zn, Zn-Cu, Pb-Zn) les effets toxiques ont tendance à varier selon les proportions du nitrate de Zn dans le mélange ;

- tous les mélanges binaires avec le nitrate de Cu donnent lieu à au moins un cas d'antagonisme vis-à-vis de la croissance de l'algue Ps. Dans l'ensemble, les effets observés sont plutôt « légers » ou « modérés » ;
- en ce qui concerne la spéciation, les pH théoriques sont de 8,06 et :
  - dans le cas des substances seules, c'est le complexe de l'élément concerné avec l'EDTA qui est l'espèce chimique prépondérante dans les solutions d'essai au détriment de l'ion libre. De plus, les proportions en cations Cu^{2+} et Pb^{2+} sont nulles dans les solutions d'essai ;
  - pour les mélanges binaires, le complexe de l'élément concerné avec l'EDTA est l'espèce chimique prépondérante dans les solutions d'essais, tout comme cela à été observé pour les substances seules. Les proportions en cation Cu^{2+} sont nulles dans les mélanges Cd-Cu, Zn-Cu et Pb-Cu. Les proportions en cation Pb^{2+} sont nulles également dans les mélanges binaires Pb-Cd, Pb-Cu et Pb-Zn.

En ce qui concerne l'apport des résultats des calculs de spéciation à la compréhension des effets toxiques observés, il ressort que l'ion libre du sel testé n'est pas toujours la principale espèce chimique qui permet d'expliquer les effets toxiques mis en évidence au moyen des essais expérimentaux, aussi bien lorsque ces sels sont testés seuls ou bien en mélange binaire. Cette observation s'applique aux essais réalisés vis-à-vis de la daphnie et dans des proportions plus importantes aux essais mis en œuvre vis-à-vis de l'algue Ps.

Pour une meilleure comprehension des effets toxiques observés, il serait intéressant de compléter ces pistes d'explication au moyen de réflexions plus approfondies portant : 1) sur la biodisponibilité des complexes solubles formés par rapport aux effets toxiques mis en évidence ; 2) les modes d'action des substances utilisées lorsqu'elles sont en mélange.

La manière dont les organismes tests modifient les équilibres des phases des solutions d'essais constitue également un élément important à prendre en considération en vue d'essayer de comprendre les effets toxiques mis en évidence dans le cadre de cette étude. En effet, les calculs de spéciation réalisés ne tiennent pas compte des interactions qui peuvent exister entre les éléments biologiques utilisés (daphnie ou bien l'inoculum en ce qui concerne le test algue Ps) et les milieux d'essai testés.

CARACTERISTIQUES DE L'ECHANTILLON DE RUTP PRELEVE EN FRANCE

II. CARACTERISTIQUES DE L'ECHANTILLON DE RUTP DU DO DU PONT DE LA BARGE (GREZIEU-LA-VARENNE, FRANCE)

Le Tableau 46 constitue une synthèse des informations relatives à l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge prélevé à Grézieu-La-Varenne (France). Il présente également les informations concernant la démarche mise en œuvre pour sa caractérisation physico-chimique et écotoxicologique.

Tableau 46 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Prélèvement				
	Date		06 février 2007	
	Nature de l'échantillon et lieu de prélèvement		RUTP du DO du Pont de la Barge à Grézieu-La-Varenne	
Caractérisation physico-chimique				
	Données CEMAGREF de Lyon		pH, Conductivité, COD, nitrates, phosphates, ammonium	
	Sur RUTP bruts et/ou filtrés		Paramètres globaux (pH, conductivité, DBO_5, DCO, O_2 dissous, COD, MES, chlorures, nitrates, ortho-phosphates, ammonium), métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn), PCB, HAP, pesticides	
	Sur particules des RUTP		Métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) Matière sèche Perte au feu	
			Granulométrie	
Caractérisation écotoxicologique en laboratoire				
	Toxicité aiguë	Ech. décanté	*Daphnia magna* 24 et 48h (Dm)	RUTP frais et décongelé
		Ech. filtré	*Vibrio fischeri* 30 min (Vf 30mn) *Pseudokirchneriella subcapitata* 72h (Ps 72h)	RUTP frais et décongelé RUTP frais
		Particules	*Vibrio fischeri* 20 min (Vf 20mn)	RUTP frais
	Toxicité chronique	Ech. filtré	*Brachionus calyciflorus* (Bc 48h) *Ceriodaphnia dubia* 7j (Cdu 7j) *Daphnia magna* 21j (Dm 21j)	RUTP frais et décongelé RUTP frais RUTP frais
		Particules	*Heterocypris ioncongruens* 6j (Hi 6j)	RUTP frais

II.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ECHANTILLON DE RUTP DU DO DU PONT DE LA BARGE

II.1.1. Présentation des résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats de la caractérisation physico-chimique de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont présentés dans l'ordre suivant : (i) mesures réalisées par le CEMAGREF de Lyon au moment du prélèvement de l'échantillon de RUTP (Tableau 47) ; (ii) résultats de la batterie « complète » de paramètres dosés pour l'échantillon de RUTP du DO (Tableau 48) ; (iii) résultats des concentrations en métaux dans les particules $\geq$ 1,2 µm du RUTP (Tableau 49) ; (iv) résultats des analyses physco-chimiques réalisées sur le filtrat d'une fraction conservée par congélation et qui sont utilisés pour la réalisation de bioessais écotoxicologiques (Tableau 50).

II.1.11. Mesures réalisées par le CEMAGREF de Lyon sur l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Le Tableau 47 synthétise les données transmises par le CEMAGREF de Lyon relatives aux paramètres dosés pour l'événement pluvieux au cours duquel l'échantillon de RUTP a été prélevé au niveau du DO du Pont de la Barge. Ces données sont présentées sous la forme de fourchettes de valeurs [valeur minimum ; valeur maximum].

Tableau 47 : Fourchettes de valeurs pour les mesures réalisées par le CEMAGREF de Lyon pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Paramètres	Unités	Mesures [Min ; Max]
Paramètres globaux :		
pH	-	[7,7 ; 7,9]
Conductivité	µS/cm	[650 ; 970]
COD (filté à 0,45 µm)	mg/L	[16,1 ; 21,2]
Phosphates	mg/L	[7,1 ; 10,3]
Nitrates	mg/L	[2,2 ; 8,3]
Ammonium	mg/L	[18,3 ; 25,1]

II.1.12. Résultats de la caractérisation physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP

Le Tableau 48 présente les résultats de l'analyse physico-chimique complète réalisée sur l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Ces analyses ont été réalisées par les Laboratoires Wessling, à l'exception du dosage des métaux qui a été réalisé au LSE de l'ENTPE et au LGCIE de l'INSA de Lyon.

Tableau 48 : Résultats de l'analyse physico-chimique « détaillée » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Paramètres	Unités	Echantillon brut	Echantillon Filtré (0,45 µm)
Paramètres globaux :			
pH	-	7,0	7,4
Conductivité	µS/cm	630	610
Potentiel redox	mV	150	220
DBO_5	mg/L	120	11
DCO	mg/L	390	48
MES	mg/L	340	< 10
COD	mg/L	-	16
O_2 dissous	mg/L	0,09	5,98
ortho-phosphates (P)	mg/L	2,8	2,7
P total	mg/L	6,4	2,8
SO_4	mg/L	30	27
Chlorures	mg/L	100	95
Nitrates	mg/L	< 5	< 5
Substances lipophiliques (NV)	mg/L	< 5	< 5
Indice hydrocarbures (HCT)	mg/L	0,9	< 0,1
Autres pesticides :			
Bentazone	µg/L	< 0,2	< 0,2
Bromoxynil	µg/L	< 0,2	< 0,2
Chlopyralide	µg/L	< 0,2	< 0,2
2,4-D	µg/L	< 0,2	< 0,2
2,4-DB	µg/L	< 0,2	< 0,2
Fluroxypyr	µg/L	< 0,2	< 0,2
Dicamba	µg/L	< 0,2	< 0,2
Dichlorprop	µg/L	< 0,2	< 0,2
Fenoprop	µg/L	< 0,2	< 0,2
Flurenol	µg/L	< 0,2	< 0,2
Ioxynil	µg/L	< 0,2	< 0,2
Dinoterb	µg/L	< 0,2	< 0,2
MCPA	µg/L	< 0,2	< 0,2
MCPB	µg/L	< 0,2	< 0,2
Mecoprop	µg/L	< 0,2	< 0,2
Metsulfuro-méthyl	µg/L	< 0,2	< 0,2
Picloram	µg/L	< 0,2	< 0,2
Pyridate	µg/L	< 0,2	< 0,2
2,4,5-T	µg/L	< 0,2	< 0,2
Quinmerac	µg/L	< 0,2	< 0,2
Malathion	µg/L	< 0,5	< 0,5

Paramètres	Unités	Echantillon brut	Echantillon Filtré (0,45 µm)
Pesticides organo-chlorés :			
Aldrine	µg/L	< 0,03	< 0,03
o,p'-DDD	µg/L	< 0,03	< 0,03
p,p'-DDD	µg/L	< 0,03	< 0,03
o,p'-DDE	µg/L	< 0,03	< 0,03
p,p'-DDE	µg/L	< 0,03	< 0,03
o,p'-DDT	µg/L	< 0,03	< 0,03
p,p'-DDT	µg/L	< 0,03	< 0,03
Dieldrine	µg/L	< 0,03	< 0,03
Endrine	µg/L	< 0,03	< 0,03
alpha-Endosulfane	µg/L	< 0,18	< 0,03
beta-Endosulfane	µg/L	< 0,03	< 0,03
Heptachlore	µg/L	< 0,03	< 0,03
Heptachlore-epoxide	µg/L	< 0,03	< 0,03
Hexachlorobenzène	µg/L	< 0,03	< 0,03
alpha-Hexachlorocyclohexane	µg/L	< 0,03	< 0,03
beta-Hexachlorocyclohexane	µg/L	< 0,03	< 0,03
gamma-Hexachlorocyclohexane	µg/L	< 0,03	< 0,03
delta-Hexachlorocyclohexane	µg/L	< 0,03	< 0,03
epsilon-Hexachlorocyclohexane	µg/L	< 0,03	< 0,03
Methoxychlore	µg/L	< 0,03	< 0,03
Pentachlorobenzène	µg/L	< 0,03	< 0,03
Pentachloronitrobenzène	µg/L	< 0,03	< 0,03
1,2,3,4-Tetrachlorobenzène	µg/L	< 0,03	< 0,03
1,2,3-Trichlorobenzène	µg/L	< 0,03	< 0,03
Triallat	µg/L	< 0,03	< 0,03
Polychlorobiphényles (PCB) :			
PCB n° 28	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 52	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 101	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 118	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 138	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 153	µg/L	< 0,005	< 0,005
PCB n° 180	µg/L	< 0,005	< 0,005

Paramètres	Unités	Echantillon	
		brut	Filtré (0,45 µm)
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) :			
Naphthalène	µg/L	< 0,06	< 0,06
Acénaphthylène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Acénaphthène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Fluorène	µg/L	0,02	< 0,02
Phénanthrène	µg/L	0,13	0,03
Anthracène	µg/L	0,04	< 0,02
Benzo(a)anthracène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Dibenzo(ah)anthracène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Fluoranthène	µg/L	0,08	< 0,02
Benzo(b)fluoranthène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Benzo(k)fluoranthène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Pyrène	µg/L	0,07	< 0,02
Benzo(a)pyrène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Indeno(123-cd)pyrène	µg/L	< 0,02	< 0,02
Chrysène	µg/L	0,03	< 0,02
Benzo(ghi)pérylène	µg/L	< 0,02	< 0,02

Paramètres	Unités	Echantillon	
		brut	Filtré (0,45 µm)
Métaux :			
Cd	mg/L	0,0003	ND
Cr	mg/L	0,011	0,001
Cu	mg/L	0,16	0,008
Ni	mg/L	0,014	0,0014
Pb	mg/L	0,034	0,0006
Zn	mg/L	0,45	0,008

ND : Non Détecté

II.1.13. Caractéristiques des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Le Tableau 49 présente les concentrations en métaux dosés dans les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Ces analyses ont été réalisées sur les particules récupérées suite à la centrifugation et la filtration (à 1,2 µm) de l'échantillon de RUTP. Les mesures pour la matière sèche (MS) et la perte au feu figurent également dans ce tableau.

Tableau 49 : Caractéristiques des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Paramètres	Unités	Concentration dans les particules ≥ 1,2 µm
Métaux :		
Cd	g/kg MS	0,0007
Cr	g/kg MS	0,024
Cu	g/kg MS	0,42
Ni	g/kg MS	0,034
Pb	g/kg MS	0,092
Zn	g/kg MS	1,19
Autres		
Matière Sèche	%	19,87
Perte au feu	g/kg MS	321

II.1.14. Caractéristiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge préalablement congelé puis soumis à des essais écotoxicologiques

Le Tableau 50 présente les concentrations des paramètres globaux et des métaux dosés pour deux fractions de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, après décongélation : brute ; pré-filtrée à 1,2 µm.

Tableau 50 : Résultats des paramètres dosés pour une fraction préalablement congelée de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Paramètres	Unités	Echantillon	
		brut	filtré à 1,2 µm
Paramètres globaux :			
pH	-	-	8,85
T	° C	-	17,1
Conductivité	µS/cm	-	967
Potentiel redox	mV	-	356
DCO	mg/L	229	54
COD (filté à 0,45 µm)	mg/L	-	39,7
ortho-phosphates	mg/L	10	8,9
Ammonium	mg/L	20,8	17,3

Paramètres	Unités	Echantillon
		filtré à 1,2 µm
Métaux :		
Cd	mg/L	ND
Cr	mg/L	0,0018
Cu	mg/L	0,0037
Ni	mg/L	0,0011
Pb	mg/L	0,0004
Zn	mg/L	0,01
ND : Non Détecté		

II.1.2. Analyse des résultats physico-chimiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

II.1.211. Paramètres globaux

<u>Le pH (Tableau 47, Tableau 48, Tableau 50)</u>

Les valeurs de pH mesurées pour l'échantillon brut de RUTP du DO du Pont de la Barge sont de : 7,0 pour la mesure réalisée en laboratoire et dans la fourchette [7,7 ; 7,9] pour les mesures réalisées *in situ* (pour la durée de l'événement pluvieux). En ce qui concerne l'échantillon filtré, les mesures réalisées au laboratoire indiquent des valeurs de pH de 7,4 (filtrat 0,45 µm) pour l'échantillon frais et de 8,85 pour le filtrat à 1,2 µm, après décongélation.

La mesure en laboratoire sur l'échantillon brut est assez proche des mesures *in situ*. En ce qui concerne la différence observée entre les filtrats à 0, 45 µm et 1,2 µm, elle peut être liée, entre autre, au fait que les filtrats ne sont pas les mêmes (0,45 µm et 1,2 µm), d'une part, et peut également découler d'une incidence de la congélation sur l'échantillon.

Globalement, les valeurs de pH mesurées pour l'échantillon (brut, filtré ou décongelé) sont comprises dans les fourchettes d'intervalles retrouvées dans la littérature pour des échantillons de

RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (6,1-10,0 : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004].

La conductivité (Tableau 47, Tableau 48, Tableau 50)

La conductivité mesurée pour l'échantillon brut de RUTP du déversoir d'orage (DO) est de 630 µS/cm pour la mesure en laboratoire. Elle correspond à la fourchette [650 ; 970] µS/cm en ce qui concerne les mesures réalisées *in situ*, pour la durée de l'événement pluvieux. La mesure de conductivité réalisée en laboratoire est proche de la borne inférieure des valeurs mesurées *in situ*.

Quand on s'intéresse aux mesures réalisées en laboratoire sur l'échantillon filtré, on aboutit à des valeurs de 610 µS/cm pour le filtrat (frais) à 0,45 µm et de 967 µS/cm pour le filtrat à 1,2 µm après décongélation. Tout comme pour le pH, cette différence peut être liée, entre autre, au fait que les filtrats ne sont pas les mêmes (0,45 µm et 1,2 µm) d'une part, et elle peut aussi découler d'une incidence de la congélation sur l'échantillon.

Comparées à d'autres valeurs de la littérature pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (130-717 µS/cm : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002], les valeurs de conductivité mesurées pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont plutôt élevées.

Le potentiel redox (Tableau 48, Tableau 50)

La mesure du potentiel redox permet d'apprécier la nature oxydante ou réductrice de l'échantillon (i. e. de transfert d'électrons entre des composés chimiques présents dans l'échantillon testé). Cette mesure permet de déterminer la scepticité ou le caractère fermenté d'une eau résiduaire.

Pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, les valeurs mesurées sont de 150 mV pour l'échantillon brut et de 200 mV pour l'échantillon filtré à 0,45 µm. En ce qui concerne le filtrat à 1,2 µm décongelé le potentiel redox mesuré est de 356 mV. Globalement, ces valeurs témoignent d'un milieu oxydant et elles sont supérieures à celles mesurées habituellement dans les effluents domestiques (100 mV : [DEGREMONT, 1989]). Selon Rejsek [2002a], la valeur de 150 mV est le frontière pour dire qu'un effluent est frais et non septique ou que ce dernier présente un risque de fermentation. Le potentiel redox mesuré pour l'échantillon brut de RUTP du DO place cet échantillon justement à la frontière d'un échantillon non septique mais qui présente un risque de fermentation.

Les MES (Tableau 48)

La concentration en MES mesurée en laboratoire est de 340 mg/L pour l'échantillon brut. Cette valeur se trouve dans la fourchette des concentrations en MES pour les effluents urbains (150 à 500 mg/L : [DEGREMONT, 1989]). En ce qui concerne le filtrat à 0,45 µm sa concentration en MES est inférieure à 10 mg/L. Comparée aux valeurs trouvées dans la littérature pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire, la concentration en MES de l'échantillon brut rentre bien dans la fourchette des valeurs indiquées (176-647 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 13-2796 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 110-510 mg/L : [Chebbo *et al.*, 2001] ; 19-938 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004]. La concentration en MES de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge peut être qualifiée de « relativement élevée ».

Le COD (Tableau 47, Tableau 48, Tableau 50)

La concentration en **Carbone Organique Dissous (COD)** mesurée pour l'échantillon frais de RUTP du déversoir d'orage (DO) du Pont de la Barge est de 16 mg/L pour les mesures en laboratoire et se situe dans la fourchette [16,1 ; 21,2] mg/L en ce qui concerne les mesures réalisées sur la durée de l'événement pluvieux. Le dosage en laboratoire indique une valeur très proche de celle obtenue pour les mesures *in situ*.

Par contre, on constate une nette augmentation de cette valeur qui passe à 39,7 mg/L pour l'échantillon filtré qui a été préalablement congelé. Cette variabilité peut provenir de plusieurs facteurs : la congélation, le fait que les mesures ont été réalisées dans des laboratoires différents, ou encore liée à la nature de la matrice. Notons toutefois, que cet écart reste quand même modéré (facteur inférieur à 3) car on peut observer de telle variabilité ou même plus importante entre des triplicats réalisés sur un même échantillon.

L'oxygène dissous (Tableau 48)

Les concentrations en O_2 dissous sont de 0,09 mg/L pour la fraction totale et de 5,98 mg/L pour le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Ces valeurs nous renseignent sur le caractère anoxique de cet échantillon de RUTP, surtout en ce qui concerne l'échantillon brut. La concentration mesurée dans l'échantillon est largement inférieure à la gamme des valeurs indiquées par Diaz-Fierros *et al.* [2002] (1,2-7,6 mg/L) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire [Parent-Raoult, 2004].

Les sulfates (Tableau 48)

Les concentrations en sulfates sont de 30 mg/L pour la fraction totale et de 27 mg/L pour le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge.

Les chlorures (Tableau 48, Tableau 50)

Les concentrations en chlorures sont de 100 mg/L pour la fraction totale et de 95 mg/L pour le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge.

Les substances lipophiliques (Tableau 48)

La concentration en substances lipophiliques dosée dans l'échantillon (brut et filtré) de RUTP du Pont de la Barge est inférieure à la limite de quantification de la méthode analytique utilisée (5 mg/L). Ce paramètre fournit une indication sur la présence de substances ayant un potentiel de bioaccumulation dans l'échantillon.

L'indice hydrocarbures (Tableau 48)

L'indice hydrocarbure mesuré dans l'échantillon brut de RUTP du Pont de la Barge est de 0,9 mg/L. Il est 9 fois plus élevé que la limite de quantification de la méthode analytique utilisée (0,1 mg/L). Ce

paramètre fournit une indication sur les hydrocarbures extractibles par un solvant pétrolier et compris entre n-C10 et n-C40.

La valeur mesurée pour l'indice hydrocarbure de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge est supérieure aux concentrations indiquées par Eganhouse et Sherblom [2001], entre 0,2 et 0,6 mg/L, pour les hydrocarbures totaux déterminés dans des échantillons bruts de RUTP provenant de déversoirs d'orage en réseau unitaire [Parent-Raoult, 2004].

II.1.212. Nutriments

Le phosphore total et les ortho-phosphates (Tableau 47, Tableau 48, Tableau 50)

La concentration en **ortho-phosphates** mesurée dans l'échantillon brut de RUTP du DO du Pont de la Barge est de 8,6 mg/L (ou 2,8 mgP/L) pour les mesures en laboratoire et comprise dans la fourchette [7,1 ; 10,3] mg/L (soit [2,3 ; 3,3] mgP/L) pour les teneurs en phosphates mesurées sur la durée de l'événement pluvieux. Pour le filtrat à 0,45 µm sa teneur en ortho-phosphates est de 8,3 mg/L (ou 2,7 mgP/L). En ce qui concerne l'échantillon congelé, les concentrations mesurées sont de 10 mg/L pour l'échantillon brut et de 8,9 mg/L pour le filtrat à 1,2 µm. En dépit de la congélation et des techniques d'analyse différentes, les concentrations mesurées pour l'échantillon brut sont relativement proches.

Globalement, les concentrations en ortho-phosphates de l'échantillon (frais ou congelé) de RUTP du DO du Pont de la Barge sont bien dans la gamme des valeurs indiquées par Lee et Bang [2000]) (0,9-21 mgP/L) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire mais elles sont relativement faibles.

Le phosphore total : la concentration mesurée dans l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge est de 6,4 mg/L pour la fraction totale et de 2,8 mg/L pour le filtrat à 0,45 µm. La concentration en phosphore total de l'échantillon brut de RUTP du DO se trouve, globalement dans la gamme des valeurs retrouvées dans la littérature pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (6,5-14 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 2,4-22,4 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 0,35-15,1 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004].

L'ion ammonium (Tableau 47, Tableau 50)

La concentration en ion ammonium mesurée *in situ* pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge se situe dans la fourchette suivante [18,3 ; 25,1] mg/L pour l'événement pluvieux au cours duquel le prélèvement a été réalisé. En ce qui concerne l'échantillon congelé, les concentrations mesurées sont de 20,8 mg/L pour l'échantillon brut et de 17,3 mg/L pour le filtrat à 1,2 µm. En dépit de la congélation et des techniques d'analyse différentes, les concentrations mesurées pour l'échantillon brut sont relativement proches.

Globalement, les valeurs mesurées sont proches de la limite inférieure de la fourchette de concentrations indiquée pour des effluents domestiques (entre 20 et 80 mg/L : [DEGREMONT, 1989] ; [Aubry, 2003] ; [Metcalf et Eddy, 2003a]. Cependant, comparées à d'autres valeurs de la littérature, les concentrations en ion ammonium de l'échantillon brut (frais *in situ* ou congelé) de

RUTP du DO du Pont de la Barge sont bien dans la gamme des valeurs indiquées par Diaz-Fierros *et al.* [2002]) (1,5-32 mg/L) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire.

Les nitrates (Tableau 47, Tableau 48)

La concentration en nitrates mesurée pour l'échantillon frais (brut et filtré) est < 5 mg/L pour les mesures en laboratoire et se situe dans la fourchette [2,2 ; 8,3] mg/L pour les mesures sur échantillon brut réalisées sur la durée de l'événement pluvieux. Ces mesures sont proches ou supérieures aux valeurs de la fourchette de concentrations indiquée par Lee et Bang [2000] (0,01-4,3 mg/L) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire.

II.1.213. Matières oxydables

Valeurs de DCO (Tableau 48, Tableau 50)

Les valeurs de DCO mesurées dans l'échantillon (frais) de RUTP du DO du Pont de la Barge sont de 390 mg/L pour l'échantillon brut et de 48 mg/L pour l'échantillon filtré. La valeur de DCO pour l'échantillon brut dépasse à peine la limite inférieure de la fourchette des valeurs admises (entre 300 et 1000 mg/L) pour un effluent urbain classique [DEGREMONT, 1989] ; [Metcalf et Eddy, 2003a].

Les mesures réalisées sur une fraction préalablement congelée de cet échantillon de RUTP conduisent à des valeurs de 229 mg/L pour l'échantillon brut et de 54 mg/L pour l'échantillon filtré à 1,2 µm. Globalement, la valeur de DCO pour l'échantillon brut est presque du même ordre de grandeur que celle obtenue pour les mesures réalisées sur l'échantillon « frais ». Par conséquent, les remarques faites dans le précédent paragraphe peuvent être appliquées à l'échantillon congelé : la congélation semble avoir très peu d'influence sur ce paramètre et la méthode du test en tubes semble permettre de faire une assez bonne estimation de la DCO pour ce type d'échantillon.

Comparées à d'autres valeurs de la littérature, les valeurs de DCO mesurées pour l'échantillon brut (frais ou congelé) de RUTP du DO du Pont de la Barge sont bien dans la gamme des valeurs retrouvées pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (250-530 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 21-1455 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 200-640 mg/L : [Chebbo *et al.*, 2001] ; 88-1073 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004].

En conclusion, les valeurs de DCO mesurées pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont relativement faibles et elles indiquent que l'échantillon contient une faible concentration de substances organiques oxydables.

Valeurs de DBO_5 (Tableau 48)

Les valeurs de DBO_5 mesurées dans l'échantillon (frais) de RUTP du DO du Pont de la Barge sont de 120 mg/L pour l'échantillon brut et de 11 mg/L pour l'échantillon filtré. La valeur de DBO_5 pour l'échantillon brut dépasse à peine la limite inférieure de la fourchette des valeurs admises (entre 100 et 400 mg/L) pour un effluent urbain classique [DEGREMONT, 1989] ; [Metcalf et Eddy, 2003a]. Comparée à d'autres valeurs de la littérature, la valeur de DBO_5 mesurée dans l'échantillon brut est bien dans la gamme des valeurs retrouvées pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau

unitaire (43-225 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 12-254 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 80-260 mg/L : [Chebbo *et al.*, 2001] ; 10-450 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004].

En conclusion, les valeurs de DBO_5 mesurées pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont plutôt faibles et elles indiquent que l'échantillon contient peu de composés organiques biodégradables.

La confrontation des valeurs de DCO et de DBO_5 nous permet d'apprécier la possibilité de biodégradation de l'échantillon. Rejsek [2002b] indique, dans le cas des eaux usées urbaines, que pour un rapport de biodégradabilité (DCO/DBO_5) compris entre 2 et 3, il convient de conclure que l'échantillon est biodégradable ; pour des valeurs supérieure à 3 l'échantillon est qualifié de plus difficilement biodégradable. Cet exercice nous a conduit a des valeurs de 3,25 pour l'échantillon brut et de 4,36 pour l'échantillon filtré, ce qui signifie que l'échantillon est relativement peu biodégradable.

II.1.214. Les pesticides

Les pesticides organo-chlorés (Tableau 48)

Les pesticides organo-chlorés dosés dans l'échantillon (brut et filtré) de RUTP du DO du Pont de la Barge, soit un total de 25 éléments, sont en concentration inférieure à la limite de quantification (LQ) de la méthode analytique utilisée (0,03 µg/L sauf l'alpha-Endosulfane pour lequel la LQ est de 0,18 µg/L).

Les autres pesticides (Tableau 48)

Les pesticides dosés dans l'échantillon (brut et filtré) de RUTP du DO du Pont de la Barge, soit un total de 21 éléments, sont en concentration inférieure aux seuils de quantification (0,5 µg/L pour le Malathion et 0,2 µg/L pour les autres pesticides).

II.1.215. Micropolluants organiques

Les PCB (Tableau 48)

Les polychlorobiphényles (PCB) dosés dans l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, soit un total de 7 éléments indicateurs, sont en concentration inférieure à la limite de quantification de la méthode analytique utilisée (0,005 µg/L), aussi bien dans l'échantillon brut que dans l'échantillon filtré. Parent-Raoult [2004] indique qu'Eganhouse et Sherblom [2001] font référence à des concentrations en PCB comprises entre 0,09 et 0,73 µg/L pour des échantillons bruts de RUTP provenant de déversoirs d'orage en réseau unitaire et, qu'en réseau séparatif drainant des rejets pluviaux urbains bruts, Rossi *et al.* [2004] font référence à des concentrations comprises entre 0,005 et 0,09 µg/L pour des échantillons bruts.

Les valeurs dosées dans l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont inférieures aux valeurs indiquées dans le paragraphe précédent, même lorsqu'on compare les 7 PCB dosés, pris individuellement, à ces fourchettes de valeurs.

Les HAP (Tableau 48)

Sur un total de 16 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) dosés dans l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, 9 d'entre eux sont en concentration inférieure à la limite de quantification de la méthode analytique utilisée (0,02 µg/L), aussi bien dans l'échantillon brut que dans l'échantillon filtré. En ce qui concerne les 7 autres, 4 d'entre eux sont en concentration inférieure à la limite de quantification (0,02 µg/L) en ce qui concerne l'échantillon filtré, tandis que leurs concentrations ont été détéctées dans l'échantillon brut à hauteur de : 0,02 µg/L pour le Fluorène, 0,03 µg/L pour le Chrysène, 0,04 µg/L pour l'Anthracène, et 0,07 µg/L pour le Pyrène.

Le Naphthalène a été détecté à une concentration inférieure à 0,06 µg/L aussi bien dans l'échantillon filtré que dans l'échantillon brut. En ce qui concerne le Phénanthrène, il a été détecté à une concentration de 0,13 µg/L dans l'échantillon brut et à 0,03 µg/L dans l'échantillon filtré.

II.1.216. Micropolluants minéraux

Echantillon brut et échantillon filtré (Tableau 48, Tableau 50)

Sur la base des concentrations des 6 éléments métalliques dosés dans l'échantillon frais de RUTP du DO du Pont de la Barge, il est possible de procéder aux classements suivants (par ordre décroissant) :

- échantillon brut (mg/L) : Zn(0,45) > Cu(0,16) > Pb(0,034) > Ni(0,014) > Cr(0,011) > Cd(0,003) ;
- filtrat à 0,45 µm (mg/L) : Zn(0,008) = Cu(0,008) > Ni(0,0014) > Cr(0,001) > Pb(0,0006) > Cd(ND).

Pour le filtrat à 1,2 µm préalablement congelé, le classement se présente de la manière suivante (par ordre décroissant) :

(mg/L) : Zn(0,01) > Cu(0,0037) > Cr(0,0018) > Ni(0,0011) > Pb(0,0004) > Cd(ND).

En comparant ces valeurs, on constate que la majeure partie de la pollution métallique est liée à la phase particulaire de l'échantillon de RUTP, ce qui est en accord avec la littérature [Chebbo *et al.*, 1990] ; [Levy, 1991] ; [Pitt *et al.*, 1995] ; [Chocat, 1997] ; [Legret et Pagotto, 1999] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Le Coustumer, 2008]. Les ordres de grandeur obtenus pour les concentrations de ces polluants métalliques sont comparables aux teneurs mesurées dans les eaux pluviales ou dans des RUTP issus de déversoirs d'orage ou de réseaux unitaires [Ellis, 1991] ; [Levy et Lara, 1992] ; [Parent-Raoult, 2004] ; [Bertrand-Krajewski, 2006] ; [Ganaye, 2006].

On constate également que les concentrations dosées dans le filtrat à 1,2 µm sont pratiquement équivalentes à celles dosées dans le filtrat à 0,45 µm pour Zn et Ni. Pour les autres paramètres, la différence entre les deux mesures est très peu significative, à l'exception du Cu.

Pollution particulaire (Tableau 49)

- Pollution métallique

Les concentrations des 6 éléments métalliques dosés dans les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge permet de procéder au classement suivant (par ordre décroissant) :

(g/kg MS) : Zn(1,19) > Cu(0,42) > Pb(0,092) > Ni(0,034) > Cr(0,024) > Cd(0,0007).

Tout d'abord, on constate que l'on conserve le classement dans le même ordre que celui établi pour l'échantillon brut. D'autre part en comparant ces valeurs aux données de la littérature, on constate que les ordres de grandeur obtenus pour les concentrations de ces polluants métalliques sont comparables aux teneurs mesurées dans les particules des eaux pluviales ou de RUTP issus de déversoirs d'orage ou de réseaux unitaires [Gromaire-Mertz, 1998] ; [Garnaud, 1999].

On constate également que Zn et Cu présentent toujours des concentrations plus importantes que Pb aussi bien sous la forme dissoute que sous la forme particulaire.

II.1.217. Matière Sèche et Perte au feu

La teneur en **matière sèche (MS)** pour les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge a été estimée à 19,8 % ; ce qui signifie que les particules récupérées dans l'échantillon de RUTP (par centrifugation puis filtration du rejet à 1,2 µm) contenaient 80% d'eau interstitielle.

En ce qui concerne la **perte au feu**, elle est estimée à 321 g/kg MS. Ce qui veut dire que l'estimation grossière de la matière organique contenue dans les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge se situe à hauteur de 32%.

II.1.3. Granulométrie des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

La **Figure 46** présente les courbes granulométriques obtenues suite à l'analyse par diffraction laser réalisée sur les particules de l'échantillon de RUTP du Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge, conformément à la méthode décrite au paragraphe III.4.2 (page 170).

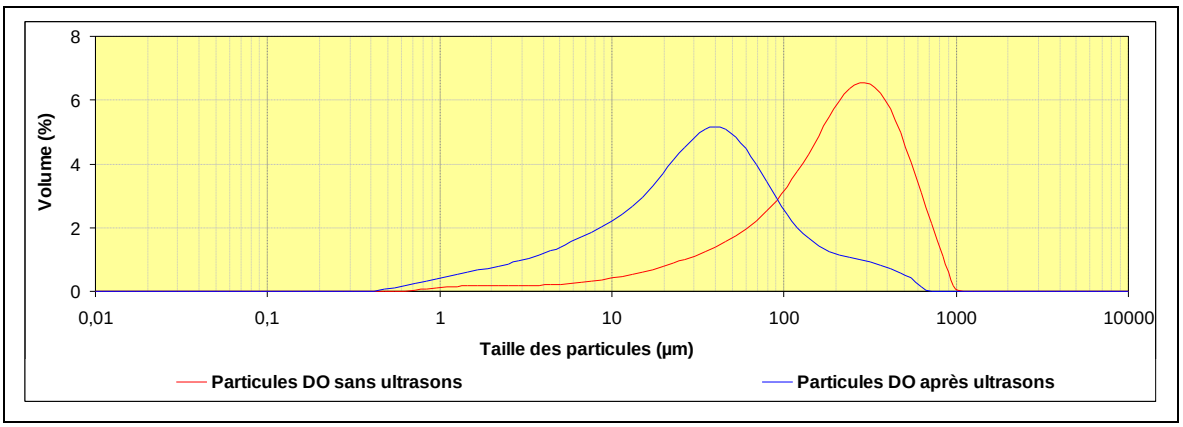


Figure 46 : **Courbes granulométriques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge**

En analysant ce graphique, on constate que les courbes granulométriques ont : (i) une allure unimodale pour les mesures réalisées sans ultrasons ; (ii) une allure légèrement bimodale pour les mesures réalisées après application des ultrasons.

Les données brutes de la répartition granulométrique (en % volumique) des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont synthétisées dans le Tableau 51, en se basant sur la classification proposée par Wentworth [1922].

Tableau 51 : Classes granulométriques pour les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge en France

Taille	*Particules DO Pont de la Barge*		*Dénomination*
	Sans ultrasons	*Après ultrasons*	
63 µm < D < 2 mm	82,13%	25,85%	sables
4 µm < D < 63 µm	16,02%	65,12%	silts
D < 4 µm	1,85%	9,03%	argiles

La **Figure 46** fait ressortir un grand décalage entre les pics principaux des courbes pour les mesures sans et après ultrasons. En effet, en ce qui concerne les mesures réalisées sans ultrasons, on constate que la majeure partie des particules sont de diamètres compris entre 100 et 1000 µm, ce qui dénote une prépondérance d'éléments plutôt grossiers au sein des particules de cet échantillon. Cette tendance est d'ailleurs confirmée par les données du Tableau 51, sur la base de la classification proposée par Wentworth [1922], avec des proportions volumiques de 82,13% d'éléments sableux au sein de l'échantillon.

Suite à l'application des ultrasons cette tendance globale est renversée (voir la **Figure 46** et le Tableau 51) donnant la prépondérance surtout aux éléments de diamètre compris entre 10 et 100 µm. Par conséquent, beaucoup d'éléments se trouvant dans la classe des sables se sont désagrégés et se sont du coup intégrés dans la classe des silts et peut-être un peu dans la classe des argiles. De ce fait, les fractions de ces deux dernières classes ont connu une nette augmentation volumique à la suite de l'application des ultrasons, en passant respectivement de 16,02% à 65,12% pour la classe des silts et de 1,85% à 9,03% pour la classe des argiles.

II.2. CARACTERISTIQUES ECOTOXICOLOGIQUES DE L'ECHANTILLON DE RUTP PRELEVE EN FRANCE

Les résultats relatifs aux réponses des bioessais mis en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique de l'échantillon de RUTP prélevé en France sont présentés au moyen des CE_{20}, tel que spécifié dans la partie « Matériels et méthodes » (voir les paragraphes II.2.32 à la page 138 et II.2.33 à la page 148). Les valeurs de CE_{20} calculées pour chacun des essais réalisés sont présentées, quand cela est possible, sous la forme d'histogrammes et sont exprimées en pourcentage d'échantillon. Les valeurs numériques de CE_{20} pour les différents bioessais mis en œuvre sont présentées en annexe de ce document (voir Annexe F).

Nous rappelons que la CE_{20} correspond à la Concentration Efficace qui provoque 20% d'effets sur la population d'organismes testée, par rapport au témoin. Plus cette valeur est faible plus l'échantillon est toxique.

Les résultats sont présentés en deux temps : d'abord ceux obtenus pour la fraction « eau » de l'échantillon prélevé ; ensuite ceux obtenus pour les essais mis en œuvre pour caractériser les « particules » de l'échantillon de RUTP du déversoir d'orage (DO) du Pont de la Barge.

II.2.1. Ecotoxicité de la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

La **Figure 47** présente les résultats obtenus pour la batterie de bioessais mise en œuvre sur la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP prélevé en France. Cette batterie de bioessais est constituée d'essais de toxicité aiguë (Dm 24 h, Dm 48 h, Vf 30 mn) et d'essais de toxicité chronique (Ps 72 h, Bc 48 h, Dm 21 jC, Dm 21 jR, Cdu 7jC, Cdu 7jR).

L'analyse de la **Figure 47** incite à deux conclusions principales en ce qui concerne les deux catégories d'essais mises en œuvre sur la fraction « eau » des RUTP :

- les valeurs de CE_{20} pour les essais de toxicité aiguë sont toujours supérieures à 80% (pourcentage maximal d'échantillon testé) ;
- les valeurs de CE_{20} pour les essais de toxicité chronique mis en œuvre sont supérieures à 80%, à l'exception des CE_{20} pour les deux critères d'effet suivi pour l'essai de toxicité chronique *C. dubia* (Cdu 7jC, Cdu 7jR).

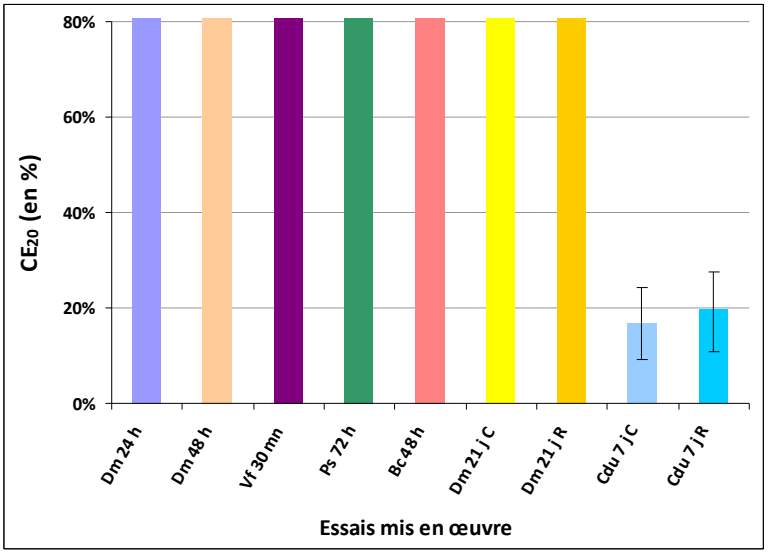


Figure 47 : **Caractéristiques écotoxicologiques de la fraction « eau » des RUTP du DO du Pont de la Barge**

Avec des valeurs de CE_{20} de 16,64% pour la croissance (Cdu 7j C) et de 19,59% pour la reproduction (Cdu 7j R), l'essai *C. dubia* 7j se révéle être le plus sensible des essais constituant la batterie de bioessais mono-spécifiques mis en oeuvre pour la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP.

Si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002], l'échantillon testé se trouve dans la catégorie des échantillons toxiques vis-à-vis de l'organisme *C. dubia*.

II.2.2. Ecotoxicité des « particules » contenues dans l'échantillon de RUTP prélevé en France

II.2.21. Ecotoxicité des « particules » de l'échantillon de RUTP pélevé en France vis-à-vis de *V. fischeri*

La **Figure 48** présente la valeur de CE_{20} obtenue suite à la mise en œuvre de l'essai Microtox® phase solide sur les « particules » de l'échantillon de RUTP prélevé en France. Avec une valeur de CE_{20} de 0,2%, les particules de cet échantillon de RUTP se révèlent très toxiques vis-à-vis de *V. fischeri*, en se référant à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002].

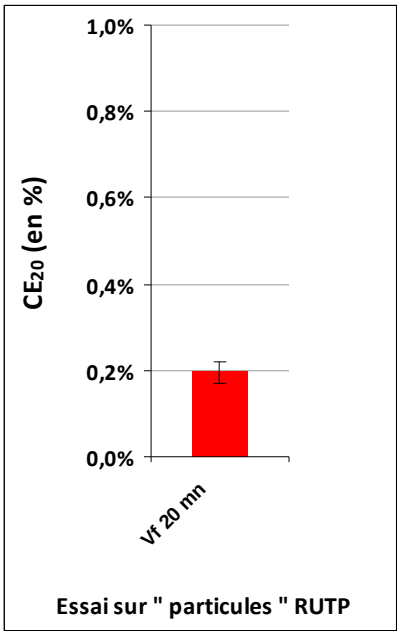


Figure 48 : **Caractéristiques écotoxicologiques des « particules » contenues dans l'échantillon de RUTP prélevé en France**

II.2.22. Ecotoxicité des « particules » de l'échantillon de RUTP pélevé en France vis-à-vis de *H. incongruens*

En ce qui concerne l'essai ostracode mis en œuvre pour les « particules » de l'échantillon de RUTP prélevé en France, un taux de mortalité de 100% a été observé pour les organismes mis en contact avec les particules de l'échantillon. En effet, au moment du dénombrement des organismes à la fin de la période d'essai, aucun organisme n'a été retrouvé vivant dans les 6 puits contenant les particules des RUTP (soit 60 ostracodes). Le développement d'un film microbien a été observé dans tous les puits d'essai au-dessus de l'échantillon testé, ce qui traduit une décomposition de l'échantillon durant la période d'essai. Ce résultat dénote une forme de toxicité de ces particules sans pouvoir préciser si elle est directement liée aux concentrations des polluants présents au sein de cette matrice ou bien si elle découle principalement de la fermentation de l'échantillon.

Cependant, l'essai a été validé puisque les deux critères de validité pour le témoin ont été conformes aux exigences du protocole de réalisation de l'essai :

- le taux de mortalité pour le témoin (5%) est inférieur à 20% ;
- l'augmentation moyenne de la taille des ostracodes dans le témoin est de plus de 40% alors que le protocole exige une augmentation moyenne $\geq$ 20% pour valider l'essai.

II.2.3. Ecotoxicité d'une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

La **Figure 49** présente les résultats pour la batterie minimale de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique d'une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Pour les bioessais communs aux deux campagnes de caractérisation écotoxicologique de l'échantillon (février et octobre 2007), les résultats sont les mêmes que lors de leur mise en œuvre sur l'« eau » de l'échantillon « frais » de RUTP du DO.

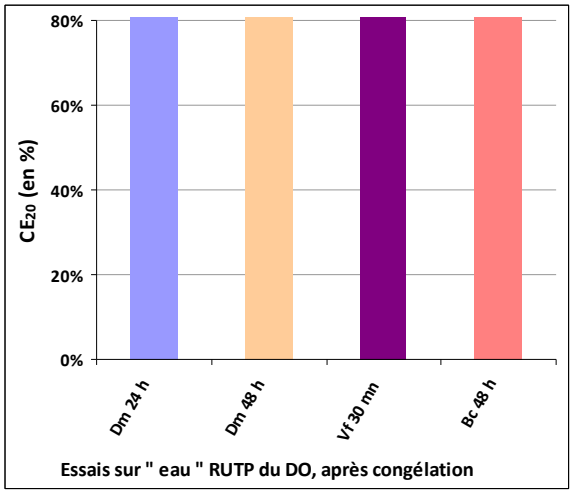


Figure 49 : **Caractéristiques écotoxicologiques d'une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP prélevé en France**

L'absence de l'essai qui s'était révélé le plus sensible (Cdu 7j) dans la batterie de bioessais mise en œuvre en février 2007 se justifie par le fait : (i) que l'on ne souhaitait retenir que les essais qui seraient mis en œuvre sur les échantillons d'Haïti ; (ii) les volumes disponibles ne permettaient par de réaliser l'essai Cdu 7j aussi bien sur l'échantillon du DO du Pont de la Barge que sur les échantillons prélevés dans le Canal Bois de Chêne en Haïti.

II.2.4. Synthèse sur l'écotoxicité de l'échantillon de RUTP prélevé en France

La batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique de l'échantillon (non congelé) de RUTP prélevé au niveau du déversoir d'orage (DO) du Pont de la Barge révèle, globalement, que l'échantillon de RUTP présente une certaine toxicité. En effet, la fraction

« eau » de cet échantillon se révèle toxique vis-à-vis de *C. dubia*. En ce qui concerne les « particules » de cet échantillon de RUTP, les deux essais mis en œuvre (Hi 6j et Vf 20 mn) révèlent un caractère toxique de l'échantillon qui peut être qualifié de très toxique vis-à-vis de *V. fischeri* (Vf 20 mn) et *H. incongruens* (Hi 6j).

Les résultats obtenus pour la fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge vont dans le même sens que les réponses obtenues pour ces mêmes essais mis en œuvre sur l'échantillon non-congelé. Les deux jeux de données concluent à un caractère non-toxique de la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP décongelé vis-à-vis des organismes *D. magna* (24 h et 48 h), *V. fischeri* (30 mn) et *B. calyciflorus* (48 h).

CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES EN HAITI

III. CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES DANS LE CANAL BOIS-DE-CHENE (PORT-AU-PRINCE, HAÏTI)

Le Tableau 52 correspond à une synthèse des informations relatives aux échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince (Haïti). Il présente également les informations concernant la démarche mise en œuvre pour la caractérisation physico-chimique et la caractérisation écotoxicologique de ces échantillons de RUTP.

Tableau 52 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Prélèvement				
	Date		04 septembre 2007	
	Nature de l'échantillon et lieu de prélèvement		RUTP du Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince : - JJD : prélevé au niveau du pont du Blvd Jean-Jacques Dessalines - CSP : prélevé dans le dégraveur de la Rue Légitime prolongée	
Caractérisation physico-chimique				
	Sur RUTP bruts et/ou filtrés	Ech. frais	pH, T (° C), conductivité	
		Ech. décongelé	Paramètres globaux (pH, conductivité, DCO, COD, MES, ortho-phosphates, ammonium), métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn)	
	Sur particules des RUTP	Ech. décongelé	Métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) Matière sèche Perte au feu	
			Granulométrie	
Caractérisation écotoxicologique en laboratoire				
	Toxicité aiguë	Ech. décanté	*Daphnia magna* 24 et 48h (Dm)	RUTP décongelé
		Ech. filtré	*Vibrio fischeri* 30 min (Vf 30mn)	RUTP décongelé
		Particules	*Vibrio fischeri* 20 min (Vf 20mn)	RUTP frais et décongelé
	Toxicité chronique	Ech. filtré	*Brachionus calyciflorus* (Bc 48h)	RUTP frais et décongelé
		Particules	*Heterocypris ioncongruens* 6j (Hi 6j)	RUTP frais et décongelé

III.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP DU CANAL BOIS-DE-CHENE

III.1.1. Présentation des résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne sont présentés dans l'ordre suivant : (i) résultats pour les paramètres dosés l'UnET, en Haïti, sur les 2 échantillons de RUTP « frais » du Canal Bois-de-Chêne (Tableau 53) ; (ii) résultats de la batterie de paramètres dosés pour les 2 échantillons de RUTP prélevés au niveau du Canal Bois-de-Chêne (Tableau 54) ; (iii) caractéristiques des particules $\geq 1{,}2$ µm des échantillons de RUTP prélevés (Tableau 55).

III.1.11. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons « frais » (brut et filtré) :

Le Tableau 53 présente les résultats pour les paramètres physico-chimiques dosés à l'UnET (en Haïti) sur les 2 échantillons « frais » de RUTP prélevés au niveau du Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince. L'échantillon « CSP » a été prélevé au niveau du point CSP (remplissant la fonction de point amont, selon le sens de l'écoulement) consitue l'exutoire du bassin-versant CSP et l'échantillon « JJd » (point aval) est celui prélevé au niveau du point JJD considéré comme l'exutoire du bassin-versant JJD (voir **Figure 25**, page 178). Rappelons que le bassins-versant JJD englobe celui de CSP.

Tableau 53 : Résultats pour les paramètres dosés dans les échantillons « frais » de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Paramètres	Unités	Echantillon CSP		Echantillon JJD	
		brut	Filtré à 1,2 µm	brut	Filtré à 1,2 µm
Paramètres globaux :					
pH	-	7,09	7,15	6,81	7,46
T	° C	28,3	26,1	28,1	26,0
Conductivité	µS/cm	600	-	1243	-

III.1.12. Caractéristiques physico-chimiques des échantillons préalablement congelés

Le Tableau 54 présente les concentrations des paramètres globaux et des métaux dosés pour trois fractions des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, après décongélation : brute ; pré-filtrée à 0,45 µm ; pré-filtrée à 1,2 µm. Des essais écotoxicologiques ont également été réalisés sur ces échantillons décongelés.

Tableau 54 : Résultats des paramètres dosés pour des fractions préalablement congelées des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Paramètres	Unités	Echantillon CSP			Echantillon JJD		
		brut	Filtré à 0,45 µm	Filtré à 1,2 µm	brut	Filtré à 0,45 µm	Filtré à 1,2 µm
Paramètres globaux :							
pH	-	-	-	7,37	-	-	7,24
T	° C	-	-	17,1	-	-	17,1
Conductivité	µS/cm	-	-	1119	2401	-	2380
Potentiel redox	mV	-	-	374	-	-	288
MES	mg/L	1066,7	-	-	683,3	-	-
DCO	mg/L	565	-	128	823	-	156
COD	mg/L	-	23,2	-	-	76,0	-
ortho-phosphates	mg/L	6,5	-	ND	11,5	-	6,40
Ammonium	mg/L	11,9	-	8,5	27,9	-	25,7
Métaux :							
Cd	mg/L	0,0015	0,0003	ND	0,0016	0,0005	ND
Cr	mg/L	0,09	0,002	0,002	0,04	0,003	0,002
Cu	mg/L	0,14	0,009	0,004	0,07	0,008	0,002
Ni	mg/L	0,06	0,005	0,004	0,03	0,005	0,005
Pb	mg/L	0,25	0,01	0,006	0,20	0,007	0,002
Zn	mg/L	0,63	0,06	ND	0,44	0,035	0,05

ND : Non Détecté ;

III.1.13. Caractéristiques des particules des échantillons de RUTP prélevés en Haïti

Le Tableau 55 présente les concentrations en métaux estimées pour les particules ($\geq$ 1,2 µm) des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, de même que la matière sèche (MS) et la perte au feu pour les particules de ces échantillons.

Tableau 55 : Caractéristiques des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Paramètres	Unités	Concentration dans les particules ≥ 1,2 µm	
		CSP	JJD
Métaux :			
Cd	g/kg MS	0,002	0,004
Cr	g/kg MS	0,14	0,12
Cu	g/kg MS	0,21	0,21
Ni	g/kg MS	0,09	0,08
Pb	g/kg MS	0,37	0,62
Zn	g/kg MS	0,90	1,31
Autres :			
Matière Sèche	%	46,7	30,8
Perte au feu	g/kg MS	189	280

III.1.2. Analyse des résultats des résultats physico-chimiques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

III.1.211. Paramètres globaux

Le pH (Tableau 53, Tableau 54)

La valeur de pH mesurée pour les échantillons bruts de RUTP du Canal Bois-de-Chêne est de 7,09 pour le point CSP et 6,81 pour le point JJD. En ce qui concerne les échantillons filtrés, les mesures sur échantillons frais filtrés à 1,2 µm indiquent des valeurs de pH de 7,15 pour le point CSP et de 7,46 pour le point JJD. Après décongélation, les pH des filtrats à 1,2 µm sont de 7,37 pour CSP et de 7,24 pour JJD. L'échantillon pour lequel on observe une plus grande fluctuation du pH est celui prélevé au niveau de JJD (6,81 ; 7,46 ; 7,24), échantillon frais et échantillon congelé confondus. Mompoint et Théléys [2004] avaient également mis en évidence une légère différence entre les valeurs de pH mesurées pour des échantillons d'eaux usées du Canal Bois-de-Chêne prélevées au niveau de ces mêmes points.

D'un point de vue global, les pH sont compris entre 6,81 et 7,46 pour les échantillons frais de RUTP et entre 7,24 et 7,37 pour les fractions congelés, échantillon brut et échantillon filtré confondus. Les variations observées entre ces mesures peuvent être liées à plusieurs facteurs tels que l'origine de ces échantillons (comparaison entre les points de prélèvement), une incidence de la congélation, ….

Globalement, les valeurs de pH mesurées pour l'échantillon (brut, filtré ou décongelé) sont compris dans les fourchettes d'intervalles retrouvées dans la littérature pour des échantillons de RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (6,1-10,0 : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]).

La température (Tableau 53, Tableau 54)

Les mesures de pH et de conductivité ont été effectuées sur des échantillons frais de RUTP du Canal Bois-de-Chêne présentant des températures de 28,3 °C pour CSP et 28,1 °C pour JJD en ce qui concerne les mesures réalisées sur les échantillons bruts. Mompoint et Théléys [2004] avaient mis en évidence des différences significatives de température entre des mesures réalisées sur des échantillons d'eaux usées du Canal Bois-de-Chêne prélevées au niveau de ces mêmes points.

Pour les filtrats frais à 1,2 µm, les deux échantillons (CSP et JJD) présentaient des températures pratiquement équivalentes de l'ordre de 26 °C. Pour les mesures de pH, conductivité, potentiel redox réalisées sur les échantillons congelés, les 2 filtrats à 1,2 µm affichaient une température de 17,1 °C.

La conductivité (Tableau 53, Tableau 54)

La conductivité mesurée pour les échantillons bruts de RUTP du Canal Bois-de-Chêne est de 600 µS/cm pour CSP et de 1243 µS/cm pour JJD, ce qui constitue un grand écart entre ces deux échantillons (au moins un facteur de 2). Pour l'échantillon brut après décongélation, les mesures n'ont malheureusment été réalisées que pour JJD. Les résultats indiquent une nette augmentation de la conductivité : 2401 µS/cm à 17,1 °C contre 1243 µS/cm à 28,1 °C. Sachant que, généralement, la conductivité augmente avec la température, cette valeur peut être plus importante pour l'échantillon brut décongelé de JJD à 28,1 °C. L'augmentation de la conductivité observée pour l'échantillon brut de JJD pourrait être liée à une incidence de la congélation.

Quand on s'intéresse aux mesures réalisées sur le filtrat à 1,2 µm après décongélation, les résultats indiquent des valeurs de conductivité de 1119 µS/cm pour CSP et de 2380 µS/cm pour JJD. On constate que l'écart est tout aussi grand et toujours dans les mêmes proportions (facteur autour de 2). Les mesures n'ayant pas pu être faites sur les filtrats frais à 1,2 µm, on ne peut donc pas apprécier les effets de la congélation sur cette fraction des échantillons.

Comparées à d'autres valeurs de la littérature pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (130-717 µS/cm : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]), les valeurs de conductivité mesurées pour les échantillons de RUTP (brut, filtré et congelé confondus) du Canal Bois-de-Chêne sont, globalement, plus élevées.

Le potentiel redox (Tableau 54)

La mesure du potentiel redox pour les filtrats à 1,2 µm des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne indique des valeurs de 374 mV pour CSP et de 288 mV pour JJD, pour des échantillons préalablement congelés. Ces milieux présentent des valeurs de potentiel redox supérieures à celles mesurées habituellement dans les effluents domestiques (100 mV : [DEGREMONT, 1989]). Conformément à la catégorisation établit par Rejsek [2002a], on peut dire que ces deux échantillons rentrent dans la catégorie d'effluent frais et non septique puisque leur potentiel redox est supérieur à 150 mV.

Les MES (Tableau 54)

Les concentrations en MES mesurées sont de 1066,7 mg/L pour CSP et de 683,3 mg/L pour JJD. L'échantillon prélevé au niveau du point CSP contient 1,5 fois plus de MES que l'échantillon prélevé au niveau du point JJD. Ces valeurs sont, globalement, supérieures à la fourchette des concentrations en MES pour les effluents urbains (150 à 500 mg/L : [DEGREMONT, 1989]) ou du moins incluses, selon les auteurs, dans les fourchettes de valeurs trouvées dans la littérature pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (176-647 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 13-2796 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 110-510 mg/L : [Chebbo *et al.*, 2001] ; 19-938 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004]. La concentration en MES des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne peut être qualifiée de « très élevée » pour l'échantillon CSP et d'« élevée » pour l'échantillon JJD.

Le COD (Tableau 54)

La concentration en **Carbone Organique Dissous (COD)** mesurée pour les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne préalablement congelés est de 23,2 mg/L pour CSP et de 76 mg/L pour JJD, ce qui représente une différence d'un facteur supérieur à 3 entre ces deux échantillons.

Ce paramètre n'a pas pu être dosé en Haïti sur ces mêmes filtrats avant congélation. Par conséquent, on n'est pas en mesure de faire ressortir une quelconque incidence de la congélation sur ce paramètre, pour les échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne en Haïti.

III.1.212. Nutriments

Les ortho-phosphates (Tableau 54)

La concentration en **ortho-phosphates** mesurée dans les échantillons bruts de RUTP du Canal Bois-de-Chêne est de 6,5 mg/L pour CSP et de 11,5 mg/L pour JJD, ces mesures étant réalisées sur des échantillons préalablement congelés. Pour les filtrats à 1,2 µm, la teneur en ortho-phosphates de l'échantillon JJD est de 6,4 mg/L ; celle de l'échantillon CSP n'a pas pu être déterminée.

Globalement, les concentrations en ortho-phosphates des échantillons (frais ou congelé) de RUTP du Canal Bois-de-Chêne sont bien dans la gamme des valeurs indiquées par Lee et Bang [2000] (0,9-21 mgP/L, soit approximativement 2,76-64,42 mg/L PO_4^{3-}) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire [Parent-Raoult, 2004], mais elles sont relativement faibles.

L'ion ammonium (Tableau 54)

La concentration en ion ammonium mesurée dans les échantillons bruts de RUTP, après décongélation, sont de 11,9 mg/L pour CSP et de 27,9 mg/L pour JJD. En ce qui concerne les filtrats à 1,2 µm de ces échantillons préalablement congelés, les concentrations mesurées sont de 8,5 mg/L pour CSP et de 25,7 mg/L pour JJD. En dépit de la congélation et des techniques d'analyse différentes, les concentrations mesurées pour l'échantillon brut sont relativement proches.

Globalement, les valeurs mesurées pour l'échantillon CSP sont inférieures à la fourchette de concentrations indiquée pour des effluents domestiques (entre 20 et 80 mg/L : [DEGREMONT, 1989; Aubry, 2003; Metcalf et Eddy, 2003b] et les valeurs mesurées pour JJD sont légèrement supérieures à cette gamme. Cependant, comparées à d'autres valeurs de la littérature, les concentrations en ion ammonium des 2 échantillons (brut ou filtré) de RUTP du Canal Bois-de-Chêne sont bien dans la gamme des valeurs indiquées par Diaz-Fierros *et al.* [2002] (1,5-32 mg/L) pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire [Parent-Raoult, 2004].

III.1.213. Matières oxydables

Valeurs de DCO (Tableau 54)

Les valeurs de DCO mesurées dans les échantillons bruts de RUTP prélevés en Haïti sont de 565 mg/L pour CSP et de 823 mg/L pour JJD. En ce qui concerne les filtrats à 1,2 µm de ces échantillons, on aboutit à 128 mg/L pour CSP et à 156 mg/L pour JJD. Les valeurs de DCO pour les 2 échantillons bruts sont comprises dans la fourchette des valeurs admises (entre 300 et 1000 mg/L) pour un effluent urbain classique ([DEGREMONT, 1989] ; [Metcalf et Eddy, 2003a]). Ce qui n'est pas le cas pour les 2 filtrats à 1,2 µm.

Comparées à d'autres valeurs de la littérature, les valeurs de DCO mesurées pour les échantillons bruts de RUTP du Canal Bois-de-Chêne sont, en fonction des auteurs, dans la gamme des valeurs retrouvées pour des RUTP issus de déversoirs d'orage en réseau unitaire (250-530 mg/L : [House *et al.*, 1993] ; 21-1455 mg/L : [Lee et Bang, 2000] ; 200-640 mg/L : [Chebbo *et al.*, 2001] ; 88-1073 mg/L : [Diaz-Fierros *et al.*, 2002]) [Parent-Raoult, 2004].

En conclusion, les valeurs de DCO mesurées pour ces 2 échantillons de RUTP (CSP et JJD) du Canal Bois-de-Chêne indiquent que ces échantillons contiennent chacun une proportion importante de substances organiques oxydables. Cette proportion de matières organiques oxydables est plus importante pour l'échantillon JJD que pour l'échantillon CSP.

III.1.214. Micropolluants minéraux

Echantillon brut et échantillon filtré (Tableau 53, Tableau 54)

Sur la base des concentrations des 6 éléments métalliques dosés dans les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, il est possible de procéder aux classements suivants (par ordre décroissant et par point de prélèvement) :

- échantillon brut (mg/L) :
  - CSP : Zn(0,63) > Pb(0,25) > Cu(0,14) > Cr(0,09) > Ni(0,06) > Cd(0,0015) ;
  - JJD : Zn(0,44) > Pb(0,20) > Cu(0,07) > Cr(0,04) > Ni(0,03) > Cd(0,0016) ;
- filtrat à 0,45 µm (mg/L) :
  - CSP : Zn(0,06) > Pb(0,01) > Cu(0,009) > Ni(0,005) > Cr(0,002) > Cd(0,0003) ;
  - JJD : Zn(0,035) > Cu(0,008) > Pb(0,007) > Ni(0,005) > Cr(0,003) > Cd(0,0005) ;

- filtrat à 1,2 µm (mg/L) :
    - CSP : Pb(0,006) > Cu(0,004) = Ni(0,004) > Cr(0,002) > Zn(ND) et Cd(ND) ;
    - JJD : Zn(0,05) > Ni(0,005) > Pb(0,002) = Ni(0,002) = Cr(0,002) > Cd(ND) ;

La comparaison de ces valeurs fait ressortir le fait que la majeure partie de la pollution métallique est liée à la phase particulaire de l'échantillon de RUTP. Ce qui est en accord avec la littérature [Chebbo *et al.*, 1990] ; [Levy, 1991] ; [Pitt *et al.*, 1995] ; [Chocat, 1997] ; [Legret et Pagotto, 1999] ; [Burton Jr et Pitt, 2001] ; [Le Coustumer, 2008]. Les ordres de grandeur obtenus pour les concentrations de ces polluants métalliques sont comparables aux teneurs mesurées dans les eaux pluviales ou dans des RUTP issus de déversoirs d'orage ou de réseaux unitaires [Ellis, 1991] ; [Levy et Lara, 1992] ; [Parent-Raoult, 2004] ; [Bertrand-Krajewski, 2006] ; [Ganaye, 2006].

On constate également, que la pollution métallique détectée au niveau de ces échantillons est plus marquée pour CSP que JJD si on se limite aux échantillons bruts et filtrés à 0,45 µm. Pour les filtrats à 1,2 µm, les concentrations en métaux qui y sont détectées sont presque toujours inférieures à celles dosées dans les filtrats à 0,45 µm.

Pollution particulaire (Tableau 55)

- Pollution métallique

Les concentrations des 6 éléments métalliques estimés pour les particules de l'échantillon de RUTP du Canal Bois-de-Chêne permet de procéder au classement suivant (par ordre décroissant) :

- CSP (g/kg MS) : Zn(0,9) > Pb(0,37) > Cu(0,21) > Cr(0,14) > Ni(0,09) > Cd(0,002) ;
- JJD (g/kg MS) : Zn(1,31) > Pb(0,62) > Cu(0,21) > Cr(0,12) > Ni(0,08) > Cd(0,004) ;

Tout d'abord, on constate que l'on conserve le classement dans le même ordre que celui établit pour l'échantillon brut. D'autre part en comparant ces valeurs aux données de la littérature, on constate que les ordres de grandeur obtenus pour les concentrations de ces polluants métalliques sont comparables aux teneurs mesurées dans les particules des eaux pluviales ou de RUTP issus de déversoirs d'orage ou de réseaux unitaires [Gromaire-Mertz, 1998] ; [Garnaud, 1999]..

III.1.215. Matière Sèche et Perte au feu

La teneur en **matière sèche (MS)** pour les particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne a été estimée à 46,7% pour CSP et de 30,8% pour JJD. Ce qui traduit que les particules récupérées dans l'échantillon CSP contiennent moins d'eau interstitielle que celles récupérées dans l'échantillon JJD.

En ce qui concerne la **perte au feu**, elle est estimée à 189 g/kg MS pour CSP et à 280 g/kg MS pour JJD. Ce qui veut dire que l'estimation grossière de la matière organique contenue dans les particules de JJD est plus importante que celle contenue dans les particules de CSP.

III.1.3. Granulométrie des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

La **Figure 50** présente les courbes granulométriques obtenues suite à l'analyse par diffraction laser réalisée sur les particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, conformément à la méthode décrite au paragraphe III.4.2 (page 170).

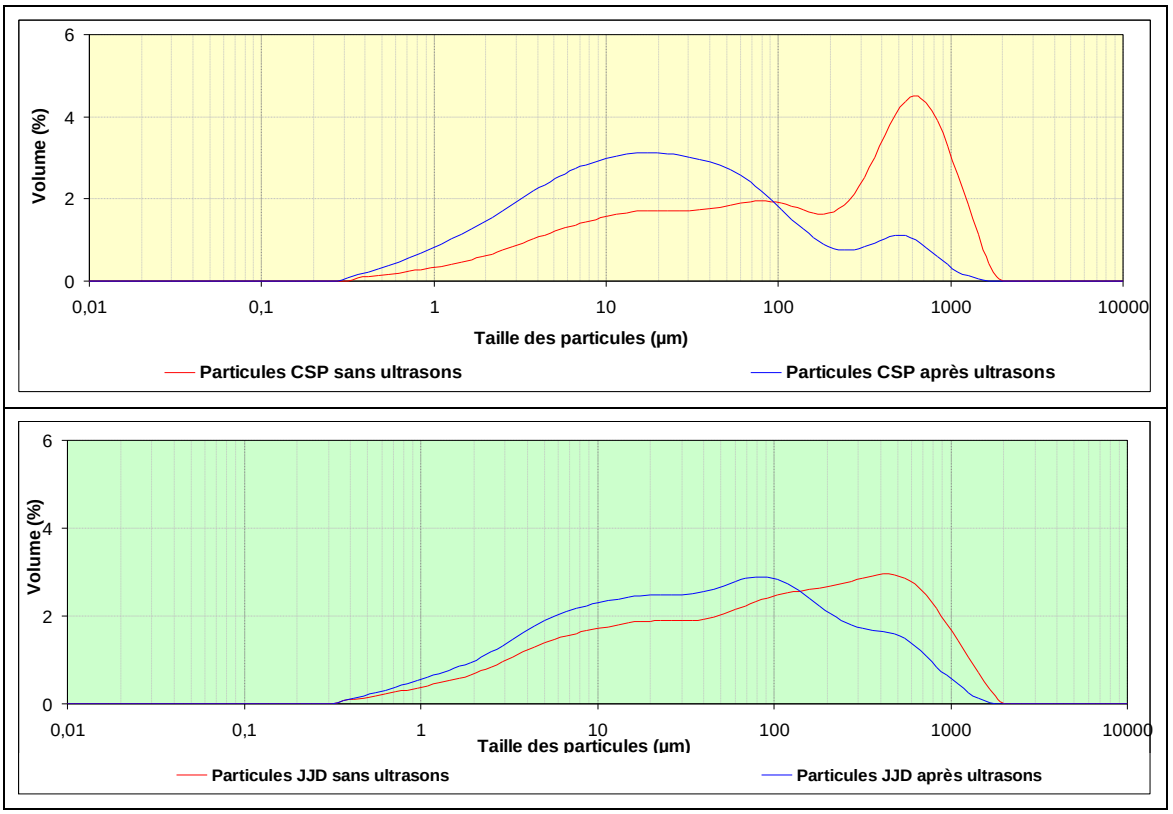


Figure 50 : **Courbes granulométriques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne**

L'analyse de ces deux graphiques révèle que les courbes granulométriques ont : (i) une allure pluri-modale (i.e. plus de 2 modes) pour les 2 échantillons en ce qui concerne les mesures réalisées sans ultrasons ; (ii) une allure bimodale pour les particules de l'échantillon CSP et une allure pluri-modale pour les particules de l'échantillon JJD, en ce qui concerne les mesures réalisées après application des ultrasons.

Les données brutes de la répartition granulométrique (en % volumique) des particules des échantillons CSP et JJD sont synthétisées dans le Tableau 56, en se basant sur la classification proposée par Wentworth [1922].

Tableau 56 : Classes granulométriques pour les particules des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne en Haïti

Taille	*Particules CSP*		*Particules JJD*		*Dénomination*
	Sans ultrasons	*Après ultrasons*	*Sans ultrasons*	*Après ultrasons*	
63 µm < D < 2 mm	59,83%	23,71%	55,40%	40,04%	sables
4 µm < D < 63 µm	32,10%	57,54%	35,49%	47,14%	silts
D < 4 µm	8,07%	18,75%	9,11%	12,82%	argiles

Quand on ne prend en compte que les mesures réalisées sans ultrasons, on constate que les particules de l'échantillon CSP renferment plus d'éléments de diamètre compris entre 300 µm et 1100 µm que l'échantillon JJD (voir **Figure 50**). Ce qui signifierait que l'échantillon CSP contient un peu plus d'éléments grossiers que l'échantillon JJD. Ce qui est confirmé par les données du Tableau 56, sur la base de la classification proposée par Wentworth [1922], avec des proportions volumiques de 59,83% d'éléments sableux pour l'échantillon CSP contre 55,40% d'éléments sableux pour l'échantillon JJD.

Par contre, après l'application des ultrasons cette tendance globale est renversée (voir la **Figure 50** et le Tableau 56). On observe également que les éléments se trouvant dans la classe des sables de l'échantillon CSP ont été beaucoup plus désagrégés que ceux se trouvant dans cette même classe pour l'échantillon JJD. Une nette augmentation de la fracion argileuse a été observée pour l'échantillon CSP à la suite de l'application des ultrasons (8,07% avant ultrasons contre 18,75% après ultrasons). Cette augmentation a également été observée dans le même sens pour l'échantillon JJD (9,11% avant ultrasons contre 12,82% après ultrasons), mais dans de moindres proportions, en ce qui concerne fraction argileuse de l'échantillon.

III.2. CARACTERISTIQUES ECOTOXICOLOGIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP DU CANAL BOIS-DE-CHENE

III.2.1. Essais écotoxicologiques réalisés en Haïti - Echantillons « frais »

Le Tableau 52 présente une synthèse des essais écotoxicologiques sélectionnés pour une mise en œuvre en Haïti sur les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne. Les essais d'inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (Vf 30 mn, sur la phase liquide ; et Vf 20 mn, sur les particules) n'ont pas pu être réalisés en raison d'une panne technique. En ce qui concerne les essais rotifère (*B. calyciflorus*, Bc 48 h) et ostracode (*H. incongruens*, Hi 6j), ces derniers ont été réalisés mais les résultats obtenus ne sont pas validés au regard des critères relatifs au protocole de chacun de ces essais.

Pour l'essai rotifère (Bc 48h), sa non validation est liée au dénombrement des rotifères en fin d'essai qui s'est révélé très difficile en raison de la présence d'un nombre important de rotifères mâles dans les puits d'essai (la souche utilisée était vraisemblablement de mauvaise qualité).

En ce qui concerne l'essai ostracode (Hi 6j), les résultats n'ont pas été validés en raison d'un taux de mortalité des ostracodes largement supérieur au maximum de 20% exigé pour le témoin (avec le sédiment de référence) afin de valider l'essai.

Une fiche récapitulative présentée en annexe de ce document (Voir Annexe G) reprend les principaux résultats obtenus, les principales hypothèses émises pour essayer de comprendre les phénomènes observés. Cette fiche se termine par une conclusion globale sur la capacité de l'UnET à réaliser ces essais, dans le contexte d'un pays tropical.

III.2.2. Essais écotoxicologiques réalisés en France - Echantillons « décongelés »

III.2.21. Ecotoxicité de la fraction « eau » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti

La **Figure 51** présente les résultats obtenus pour la batterie de bioessais mise en œuvre, en France, sur la fraction « eau » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti. Cette batterie de bioessais comprend des essais de toxicité aiguë (Dm 24 h, Dm 48 h, Vf 30 mn) et un essai de toxicité chronique (Bc 48 h).

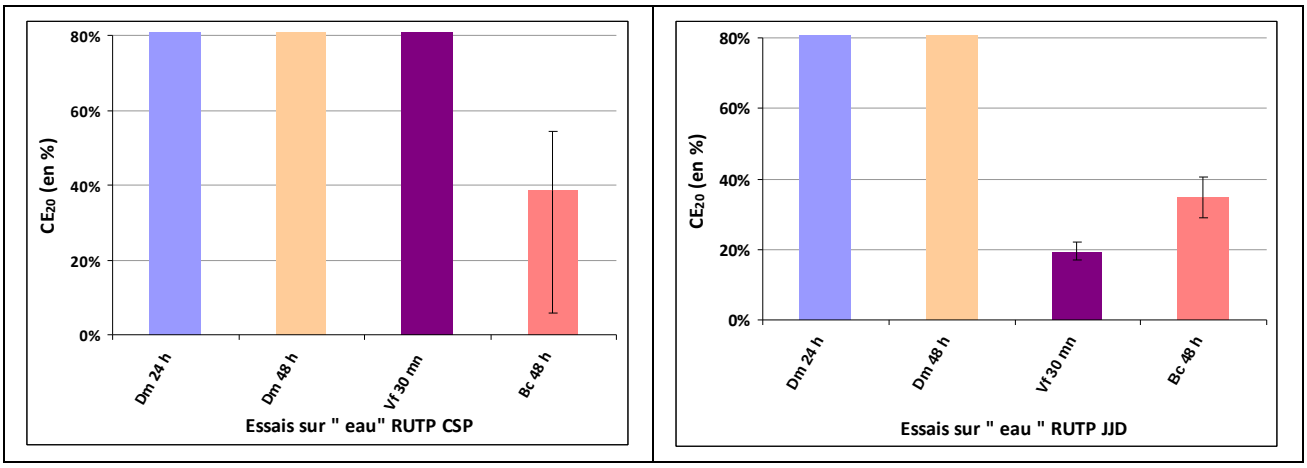


Figure 51 : **Caractéristiques écotoxicologiques de la fraction « eau » des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne**

En analysant la **Figure 51** sur la base des valeurs de CE_{20} on constate que la fraction « eau » des RUTP des deux points de prélèvement (CSP et JJD) présente une toxicité vis-à-vis de certains des organismes tests. De plus, on observe également que l'échantillon la fraction « eau » de l'échantillon CSP présente uniquement une toxicité chronique (Bc 48 h) tandis que la fraction « eau » de l'échantillon JJD présente à la fois une toxicitié aiguë (Vf 30 mn) et une toxicité chronique (Bc 48 h).

Avec des valeurs de CE_{20} supérieures à la concentration maximale testée pour les essais *D. magna* 24 h, *D. magna* 48 h, et *V. fischeri* 30 mn, la **fraction « eau » de l'échantillon CSP** est non-toxique vis-à-vis de ces 2 organismes, si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002]. L'organisme *B. calyciflorus* est le plus sensible des organismes tests utilisés pour tester la fraction « eau » de

l'échantillon CSP, avec une valeur de CE_{20} = 38,59% pour l'essai Bc 48 h. En se référant à la classification proposée par Santiago *et al.* [2002], cet échantillon peut être qualifié de peu toxique vis-à-vis de *B. calyciflorus*.

En ce qui concerne la **fraction « eau » de l'échantillon JJD**, les valeurs de CE_{20} obtenues pour les essais *D. magna* 24 h et *D. magna* 48 h sont supérieures à la concentration maximale testée ce qui dénote un caractère non-toxique de cet échantillon vis-à-vis de l'organisme *D. magna*, si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique établie par Santiago *et al.* [2002] pour des effluents de STEP. Les valeurs de CE_{20} pour les essais Vf 30 mn (19,21%) et Bc 48 h (34,60%) révèlent que cet échantillon présente une toxicité pour *V. fischeri* et *B. calyciflorus* respectivement. De ces 2 organismes, c'est *V. fischeri* qui est le plus sensible par rapport à la fraction « eau » de l'échantillon JJD, car la valeur de CE_{20} pour cet essai est la plus faible. En se référant à la classification proposée par Santiago *et al.* [2002], la fraction « eau » de l'échantillon JJD peut être qualifiée de toxique vis-à-vis de *B. calyciflorus* et de *V. fischeri*.

III.2.22. Ecotoxicité des « particules » contenues dans les échantillons de RUTP prélevés en Haïti

III.2.221. Ecotoxicité des « particules » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti vis-à-vis de *V. fischeri*

La **Figure 52** présente les valeurs de CE_{20} obtenues suite à la mise en œuvre de l'essai Microtox® phase solide sur les « particules » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti. Cette figure indique que les particules des 2 échantillons présentent une toxicité pour l'organisme *V. fischeri* puisque les valeurs de CE_{20} obtenues sont inférieures à 1%. On constate également que cette toxicité est pratiquement équivalente pour les particules des 2 échantillons, sur la base de l'essai Vf 20 mn. Les valeurs de CE_{20} obtenues sont de 0,33% pour les particules de l'échantillon CSP et de 0,31% pour les particules de l'échantillon JJD. Si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002], les particules des échantillons CSP et JJD peuvent être qualifiées de très toxiques vis-à-vis de *V. fischeri*.

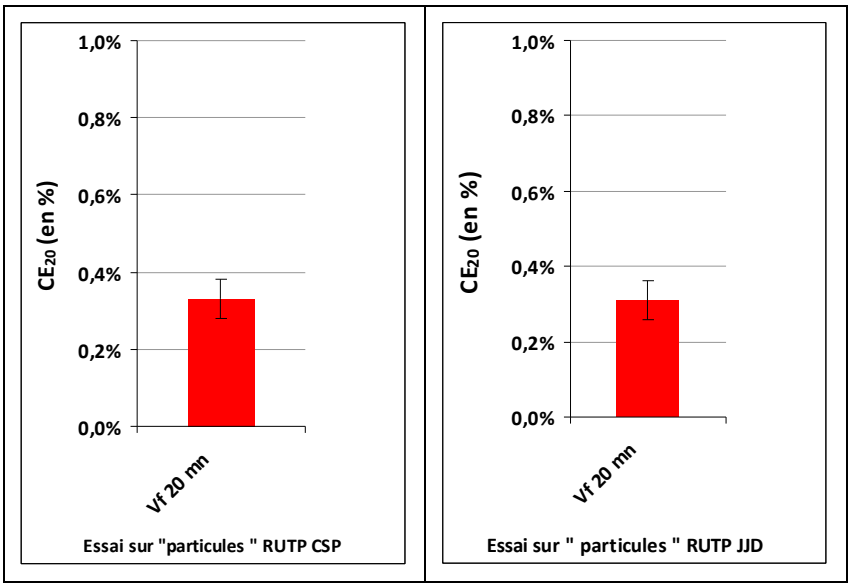


Figure 52 : **Caractéristiques écotoxicologiques des « particules » contenues dans les échantillons de RUTP prélevés en Haïti**

III.2.222. Ecotoxicité des « particules » des échantillons de RUTP pélevés en Haïti vis-à-vis de *H. incongruens*

Le Tableau 57 présente les résultats obtenus pour l'essai ostracode mis en œuvre pour les « particules » des échantillons de RUTP prélevés en Haïti. Indépendamment du critère d'effet considéré, on constate que les particules des 2 échantillons présentent une toxicité vi-à-vis de *H. incongruens* en termes de mortalité. Cependant, les particules de JJD sont nettement plus toxiques pour les ostracodes puique la mortalité des organismes est nettement plus importante pour les particules de cet échantillon (62,50%) que celle observée pour les particules de l'échantillon CSP (8,33%).

Tableau 57 : Ecotoxicité des particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne vis-à-vis des ostracodes

Critères d'effet	Unités	Particules ≥ 1,2 µm	
		CSP	JJD
Mortalité	% (par rapport à la population initiale)	8,33	62,50
Croissance des organismes	% (par rapport au témoin)	+ 6	- 74

Quand on se réfère à la croissance des organismes, on constate que les particules de l'échantillon JJD se révèlent être très toxiques pour les ostracodes comparativement aux particules de l'échantillon CSP. En effet, les réultats indiquent que la taille moyenne des organismes mis en contact avec les particules de l'échantillon CSP dépasse de 6% la taille des organismes du témoin

tandis que pour les organismes mis en contact avec les particules de l'échantillon JJD, la taille moyenne de ces derniers a été inhibée de 74% par rapport au témoin.

III.2.23. Synthèse sur l'écotoxicité des échantillons de RUTP prélevés en Haïti

La batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre, en France, pour la caractérisation écotoxicologique des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince révèle, globalement, que les 2 échantillons (CSP et JJD) de RUTP sont de nature toxique. En effet, la fraction « eau » de ces échantillons se révèle toxique vis-à-vis de *B.calyciflorus*. En ce qui concerne les « particules » de ces échantillons de RUTP, les deux essais mis en œuvre (Hi 6j et Vf 20 mn) révèlent un caractère toxique de ces échantillons qui peut être qualifié de très toxique vis-à-vis de *V. fischeri* (Vf 20 mn).

Les différents critères d'effet observés à travers la batterie de bioessais mise en œuvre permettent de conclure à une toxicité plus importante de l'échantillon JJD par rapport à l'échantillon CSP.

EDREcotox LIEE AU DEVERSEMENT DE RUTP POUR UN SCENARIO FRANCAIS

APPROCHE *A PRIORI*

IV. APPLICATION SUR LA BASE D'UNE APPROCHE *A PRIORI* DE LA METHODOLOGIE D'EDRECOTOX PROPOSEE A UN SCENARIO FRANÇAIS

IV.1. FORMULATION DU PROBLEME

IV.1.1. Introduction et contexte général du scénario etudié

Cette section du document est destinée à l'application, sur la base d'une approche *a priori*, de la méthodologie d'Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) proposée dans la partie « Matériels et Méthodes » à un scénario d'une ville française.

Le scénario étudié est celui lié au déversement du déversoir d'orage (DO) du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne qui est un cours d'eau péri-urbain (**Figure 53**). Les principales caractéristiques du bassin-versant (BV) de la Chaudanne, située dans la commune de Grézieu-La-Varenne, ont été présentées de manière détaillée dans la section III de la partie « Matériels et Méthodes » (page 159). Le DO est l'exutoire principal de ce BV. Les paragraphes suivants ne reprennent que les informations essentielles à la conduite des principales étapes de la méthodologie proposée.

Figure 53 : **Scénario français - Déversoir d'orage (DO) déversant des RUTP dans la rivière Chaudanne**

Cette EDREcotox est réalisée en vue d'évaluer les risques liés au déversement des RUTP du DO dans la rivière Chaudanne. Cette rivière présente la particularité de connaître des périodes d'étiage sévère (i.e. aucun écoulement de surface) pendant plusieurs mois de l'année. Au cours de ces périodes, les RUTP déversés par le DO constituent le débit principal de cette rivière, surtout en ce qui concerne la partie en aval de ce déversoir.

Dans le cadre de cette EDREcotox pour la rivière Chaudanne, un seul événement pluvieux a été étudié. Il s'agit de celui survenu le 06 février 2007 qui a donné lieu au prélèvement d'un échantillon de RUTP.

IV.1.2. Paramètres d'évaluation et modèle conceptuel

IV.1.21. Stresseurs et source d'émission

Les stresseurs sont les polluants présents, tant sous la forme dissoute que sous la forme particulaire, dans l'échantillon de RUTP prélevé. A l'échelle globale, la source d'émission de ces stresseurs est le bassin-versant de la Chaudanne mais de manière plus ponctuelle, il s'agit du DO du Pont de la Barge.

Les principales considérations sur les catégories de stresseurs non pris en compte dans la méthodologie proposée s'appliquent également à ce scénario.

IV.1.22. Ecosystème à protéger et organismes cibles

L'écosystème à protéger est celui de la rivière Chaudanne et les organismes cibles sont ceux vivant dans les deux compartiments de la rivière : la « colonne d'eau » et les « sédiments ».

IV.1.23. Modèle conceptuel

Le modèle conceptuel général présenté dans la méthodologie d'EDREcotox proposée (**Figure 17**) est applicable au scénario étudié pour la ville française.

IV.1.24. Plan d'analyse

Le plan d'analyse présenté dans la méthodologie d'EDREcotox proposée (Tableau 18) est applicable au scénario de déversement des RUTP du DO du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne.

IV.2. PHASE D'ANALYSE - SCENARIO FRANÇAIS

IV.2.1. Généralités

Pour la conduite de cette phase d'analyse, une campagne de prélèvements a été réalisée le 06 février 2007. L'échantillon de RUTP a été récupéré au niveau du DO du Pont de la Barge, au moyen d'un préleveur automatique installé dans le bungalow se trouvant à proximité du DO.

L'échantillon prélevé a été ramené en laboratoire afin d'être caractérisé d'un point de vue physico-chimique et d'un point de vue écotoxicologique. Les informations relatives à ces deux processus de caractérisation sont présentées dans la section III de la partie « Matériels et Méthodes », et les principaux résultats obtenus dans la section II de la partie « Résultats » de ce document.

IV.2.2. Caractérisation de l'exposition - Détermination des valeurs de PEC

IV.2.21. Les polluants « traceurs » de risque pour les RUTP du DO du Pont de la Barge

Le choix des polluants « traceurs » de risque a été réalisé sur la base des indications présentées dans le paragraphe II.2.221 des « Matériels et Méthodes » (page 135). Les concentrations de ces traceurs de risque seront considérées dans l'EDREcotox liée au déversement des RUTP du DO du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne.

IV.2.211. Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau »

Le Tableau 58 présente les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne. Ils ont été sélectionnés parmi les paramètres dosés dans l'échantillon brut de RUTP du DO du Pont de la Barge, dont les résultats figurent dans le Tableau 48 (page 259).

Tableau 58 : Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne exposés aux RUTP du DO du Pont de la Barge

Traceurs	Concentration (µg/L)
Ammonium	20000*
Chlorures	100000
Anthracène	0,04
Fluoranthène	0,08
Fluorène	0,02
Phénanthrène	0,13
Pyrène	0,07
Cd	0,3
Cr	11
Cu	160
Ni	14
Pb	34
Zn	450

* Concentration médiane des mesures *in situ* pendant l'événement pluvieux

Les paramètres physico-chimiques non pris en compte à titre de traceurs de risque pour les organismes de la « colonne d'eau » sont les suivants :

- les polluants figurant dans le Tableau 48 et dont les concentrations sont inférieures soit à la limite de détection soit à la limite de quantification des techniques analytiques utilisées ;
- les polluants dosés sous la forme d'un indice ou d'un groupe tels : le pH, la conductivité, le potentiel redox, la DBO_5, la DCO, les MES, le COD, l'O_2 dissous, les ortho-phosphates, les substances lipophiliques, l'indice hydrocarbures, … ;

- le Chrysène parce que les données écotoxicologiques consultées n'ont pas permis de déterminer la $PNEC_{aquatique}$ pour cet élément ;
- les polluants non dosés dans l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, tels que : les éléments radioactifs, d'autres polluants minéraux, ….

IV.2.212. Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment »

Le Tableau 59 présente les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » pour la rivière Chaudanne. Ils consistent essentiellement en des paramètres qui ont été dosés dans les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Les critères de sélection des paramètres retenus sont pratiquement les mêmes que ceux présentés précédemment pour la sélection des traceurs pour les organismes de la « colonne d'eau ».

Tableau 59 : Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » pour la rivière Chaudanne

Traceurs	Concentration (mg/kg MS)
Cd	0,7
Cu	420
Ni	34
Pb	92
Zn	1190

Le chrome (Cr) n'a pas été retenu parce que les données écotoxicologiques consultées n'ont pas permis de déterminer la $PNEC_{Séd}$ pour cet élément.

IV.2.22. Valeurs de PEC pour les organismes de la « colonne d'eau »

Dans le cadre de cette étude, le calcul des valeurs de $PEC_{Eau\text{-}S}$ a été effectué pour 2 situations différentes. En effet, en plus du calcul pour la situation « la plus défavorable » qui est assimilée à la période d'étiage de la rivière, la situation se rapportant au jour du prélèvement a également été traitée. Ce dernier constitue un cas concret. Par contre, pour le cas « le plus défavorable », nous avons émis l'hypothèse simplificatrice de ne considérer que les caractéristiques chimiques de l'échantillon de RUTP correspondant à l'événement pluvieux étudié. Les paragraphes suivants présentent de façon plus détaillée les hypothèses et les calculs associés à chacune des 2 situations traitées.

IV.2.221. Situation 1 : Le jour du prélèvement

Cette première situation concerne le jour du prélèvement. L'historique de débits, du DO et de la rivière Chaudanne, transmis par le CEMAGREF de Lyon [Breil, 2008] a permis d'estimer le débit moyen de la rivière Chaudanne ($Q_{Rivière}$) à 16 L/s pour la période au cours duquel le prèlèvement a été réalisé. Le débit moyen du DO (Q_{DO}) étant estimé à 1 L/s, par conséquent, **le pourcentage volumique de RUTP dans la rivière Chaudanne est donc de ($Q_{DO}/Q_{Rivière}$) de 5,9%**. En prenant en compte ce

pourcentage volumique, on aboutit aux valeurs de PEC_{Eau-S} présentées dans la 1ère colonne du Tableau 60 pour les traceurs de risque retenus.

Hervé [2007] indique, sur la base des historiques annuels de débit de la rivière Chaudanne, que le débit moyen de cette rivière péri-urbaine se situe entre 10 L/s et 30 L/s, selon les années. Le débit enregistré pour la rivière Chaudanne ($Q_{Rivière}$ de 16 L/s) se trouve dans cette fourchette de valeurs. D'ailleurs, en effectuant le calcul sur la base de l'historique de débit de l'année 2007 (transmis par [Breil, 2008]), on aboutit à un débit moyen de 15 L/s pour la rivière Chaudanne. On en conclut que le jour du prélèvement correspond à une situation de débit moyen dans la rivière Chaudanne.

IV.2.222. Situation 2 : Cas extrême avec $Q_{Rivière}$ nul

Normalement, la situation « la plus défavorable » correspond à la période d'étiage pour le cours d'eau récepteur. Les données de la littérature font état d'un débit ($Q_{Rivière}$) variant de 0 à 10 L/s pour la rivière Chaudanne en période d'étiage [Gnouma, 2002]. De ce fait, de cette période d'étiage, il est possible de dégager une situation dite « extême » qui correspond à un débit nul dans la rivière Chaudanne ; ce qui est généralement constatée pour cette rivière, ceci pendant plusieurs jours ou plusieurs mois de l'année (en été, par exemple) ([Gnouma, 2002] ; [Breil, 2008]). Ce cas « extrême » constitue une caractéristique particulière de cette rivière péri-urbaine. Dès lors, **le pourcentage volumique de RUTP dans la rivière Chaudanne est donc de 100%**.

En pareille période, lors d'un événement pluvieux, les organismes se retrouvent exposés à un rejet non dilué. Par conséquent, si on conserve le même débit pour le DO (Q_{DO} de 1 L/s), les valeurs de PEC_{Eau-S} correspondent directement aux concentrations dosées pour les polluants traceurs de risque dans l'échantillon brut de RUTP du DO du Pont de la Barge ; ces valeurs figurent dans la 2ème colonne du Tableau 60.

Tableau 60 : Valeurs de PEC_{Eau-S} estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » pour les 2 situations étudiées

Traceurs	PEC_{Eau-S} (µg/L)	
	Situation 1 (Jour du prélèvement)	Situation 2 ($Q_{Rivière}$ nul)
Ammonium	1176,47	20000
Chlorures	5882,35	100000
Anthracène	0,0024	0,04
Fluoranthène	0,0047	0,08
Fluorène	0,0012	0,02
Phénanthrène	0,0076	0,13
Pyrène	0,0041	0,07
Cd	0,0176	0,3
Cr	0,65	11
Cu	9,41	160
Ni	0,82	14
Pb	2	34
Zn	26,47	450

IV.2.23. Valeurs de PEC pour les organismes du « sédiment »

Pour les organismes du « sédiment », aussi bien dans la zone benthique que dans la zone hyporhéique, il est fait l'hypothèse de l'existence de zones préférentielles de décantation des particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Dans ces conditions, les organismes seraient directement exposés à ce dépôt de particules. Cette situation peut être qualifiée de « plus défavorable » pour ces organismes.

Par conséquent, les valeurs de $PEC_{Séd}$ correspondent aux concentrations dosées pour les traceurs de risques dans les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Tableau 61).

Tableau 61 : Valeurs de $PEC_{Séd}$ estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne

Traceurs	$PEC_{Séd}$ (mg/kg MS)
Cd	0,7
Cu	420
Ni	34
Pb	92
Zn	1190

IV.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques - Détermination des valeurs de PNEC

La caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge a été réalisée selon l'approche décrite dans le paragraphe III.5 des « Matériels et Méthodes ». Les considérations ainsi que les résultats utilisés pour la détermination des valeurs de PNEC proviennent respectivement du paragraphe II.2.36 de la partie « Matériels et Méthodes » et du paragraphe consacré au choix des polluants traceurs de risque pour ce scénario.

IV.2.31. Approche « substances »

IV.2.311. Valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ pour les organismes de la « colonne d'eau »

Pour les organismes du compartiment « colonne d'eau », la démarche générale de détermination des valeurs de $PNEC_{Eau}$ pour les traceurs de risque retenus pour ce compartiment consiste à rechercher dans les Bases de Données Internationales (BDI) les valeurs de $PNEC_{Eau}$ proposée pour les milieux d'eau douce.

Le Tableau 62 présente les valeurs de $PNEC_{Eau}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la colonne d'eau. Les références concernant la source bibliographique d'où cette valeur est tirée pour chacun de ces traceurs figurent également dans ce tableau.

Tableau 62 : Valeurs de $PNEC_{Eau}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne

Traceurs	$PNEC_{Eau-S}$ (µg/L)	Références
Ammonium	1370	[SADA]
Chlorures	230000	[ERD, 1999] ; [Boillot, 2008]
Anthracène	0,063	[INERIS, 2005g]
Fluoranthène	0,12	[INERIS, 2008c]
Fluorène	0,25	[INERIS, 2005b]
Phénanthrène	1,34	[INERIS, 2005d]
Pyrène	0,012	[INERIS, 2005a]
Cd	0,75	[INERIS, 2005e]
Cr	3,4	[INERIS, 2008c]
Cu	1,6	[INERIS, 2005f]
Ni	0,5	[INERIS, 2006b]
Pb	1,6	[INERIS, 2008c]
Zn	7,8	[INERIS, 2008c]

La valeur de $PNEC_{Eau-S}$ la plus élevée est celle des chlorures (230 mg/L) suivie de celle de l'ammonium (1,37 mg/L). En ce qui concerne les valeurs les plus faibles, c'est le pyrène qui ressort avec une $PNEC_{Eau-S}$ de 0,012 µg/L suivi de l'anthracène (0,063 µg/L). Si on s'intéresse au groupe des métaux

uniquement, le Zn présente la valeur de $PNEC_{Eau-S}$ la plus élevée (7,8 µg/L) tandis que le Cd présente la valeur la plus faible (0,75 µg/L).

IV.2.312. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment »

La démarche générale de détermination des valeurs de $PNEC_{Séd}$ adoptée pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » est la même que celle présentée pour la détermination des valeurs de $PNEC_{Eau}$ pour les organismes du compartiment « colonne d'eau ».

Les valeurs obtenues sont présentées dans le Tableau 63 ainsi que les références concernant les sources bibliographiques consultées.

Tableau 63 : Valeurs de $PNEC_{Séd}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » de la rivière Chaudanne

Traceurs	$PNEC_{Séd}$ (mg/kg MS)	Références
Cd	2,3	[INERIS, 2008b]
Cu	0,8	[INERIS, 2005f]
Ni	4	[INERIS, 2006b]
Pb	6,8	[INERIS, 2003b]
Zn	37	[INERIS, 2005c]

La valeur de $PNEC_{Séd}$ la plus élevée est celle du Zn (37 mg/kg MS) tandis que la valeur la plus faible est la $PNEC_{Séd}$ du Cu (0,8 mg/kg MS).

IV.2.32. Approche « matrice » par la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

IV.2.321. Valeurs de $PNEC_{Eau-MBM}$ pour les organismes de la « colonne d'eau »

La détermination de la $PNEC_{Eau}$ pour les organismes de la « colonne d'eau », en se basant sur une approche « matrice » avec la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques requiert l'utilisation des résultats obtenus suite à la caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP prélevé. Ces résultats ont été présentés dans le paragraphe II.2.1 de la partie « Résultats ».

L'essai de toxicité chronique mis en œuvre vis-à-vis de l'organisme *Ceriodaphnia dubia* s'est révélé le plus sensible de la batterie de bioessais mono-spécifiques testée sur la fraction « eau » (filtrat à 1,2 µm) de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge. Les valeurs de CE_{20} obtenues pour les deux critères d'effets observés sont relativement proches : **16,64% pour la croissance (Cdu 7j C)** et de 19,59% pour la reproduction (Cdu 7j R). La CE_{20} pour la croissance étant la plus faible des 2 valeurs obtenues, elle est donc sélectionnée pour la suite du processus d'EDREcotox lié au déversement de RUTP du DO du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne.

La seconde étape de ce processus de détermination de la $PNEC_{Eau}$ pour le scénario français résulte dans le choix du facteur d'extrapolation sur la base de la batterie de bioessais mise en œuvre. L'écotoxicité de la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge a été appréciée au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques constituée de 2 essais de toxicité aiguë et de 4 essais de toxicité chronique. Les organismes utilisés pour la caractérisation des effets écotoxicologiques du RUTP du DO appartiennent à au moins 3 niveaux trophiques.

La prise en compte de ces considérations associée aux recommandations figurant dans le Technical Guidance Document [ECB, 2003] et repris par l'INERIS [2003a], indique que le facteur d'extrapolation le plus approrié équivaut à **10**. Ce facteur de 10 est associé au cas où la batterie testée est composée de 3 essais chroniques pour au moins 3 espèces représentant 3 niveaux trophiques.

Par conséquent, la **$PNEC_{Eau-MBM}$** pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne vaut **1,66%** (16,64% / 10).

IV.2.322. Valeurs de $PNEC_{Séd-MBM}$ pour les organismes du « sédiment »

Les deux essais (Vf 20 mn et Hi 6j) mis en œuvre sur les particules des RUTP du DO du Pont de la Barge ont révélé que ces particules sont toxiques vis-à-vis des organismes tests. Néanmoins, dans le cadre de cette étude, on a opté pour une appréciation qualitative du risque que ces particules présentent pour les organismes du sédiment de la rivière Chaudanne, ce qui ne requiert pas la détermination de valeur de $PNEC_{Séd-MBM}$. De ce fait, aucune valeur de $PNEC_{Séd-MBM}$ n'est déterminée, sur la base de l'approche « matrice », pour ces organismes pour le scénario français étudié.

IV.3. CARACTERISATION DU RISQUE POUR DES ORGANISMES DE LA RIVIERE CHAUDANNE EXPOSES AUX RUTP DU DO DU PONT DE LA BARGE, DANS LE CADRE D'UNE APPROCHE *A PRIORI*

IV.3.1. Caractérisation du risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne

IV.3.11. Indice de Risque (IR_{Eau-S}) calculé selon l'approche « substances »

Le calcul de l'indice de risque pour le compartiment de la colonne d'eau selon l'approche « substances » (IR_{Eau-S}) a été réalisé en procédant au rapport « $PEC_{Eau-S}/PNEC_{Eau-S}$ » pour chacun des traceurs de risque et pour les 2 situations étudiées. Les résultats de ces calculs sont présentés dans le Tableau 64.

Tableau 64 : Valeurs de l'indice de risque IR_{Eau-S} calculé pour les 2 situations étudiées pour la « colonne d'eau » dans le cadre d'une approche « substances »

Traceurs	IR_{Eau-S}	
	Situation 1 (Jour du prélèvement)	Situation 2 ($Q_{Rivière}$ nul)
Ammonium	0,86	14,60
Chlorures	0,026	0,43
Anthracène	0,037	0,63
Fluoranthène	0,039	0,67
Fluorène	0,005	0,08
Phénanthrène	0,006	0,10
Pyrène	0,34	5,83
Cd	0,024	0,40
Cr	0,19	3,23
Cu	**5,88**	**100**
Ni	1,65	28,00
Pb	1,25	21,25
Zn	3,39	57,69

Pour les 2 situations étudiées sur la base d'une approche « substances », l'IR_{Eau-S} du Cu est la valeur la plus élevée. Le cuivre (Cu) est donc la substance qui permet d'estimer l'indice de risque pour les organismes de la « colonne d'eau » du scénario français étudié. L'IR_{Eau-S} le plus élevé obtenu est de 100 et il est associé à la situation 2 (cas extrême), lorsque le débit de la rivière est nul. Pour la situation du jour du prélèvement (situation 1), la valeur d'IR_{Eau-S} obtenue est quand même importante.

Les résultats obtenus pour les situations étudiées suivant une approche « substances » mettent en évidence un risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne car les indices de risque respectifs de chacune de ces situations sont toujours supérieurs à 1.

$IR_{Eau-S} > 1$ → existence d'un risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne, sur la base d'une approche « substances »

Dans le cadre de l'étude de l'écotoxicité de polluants présents dans les RUTP, dont les résultats figurent dans la première section de la partie « Résultats » de ce document, le cuivre s'était également révélé comme étant la substance la plus toxique vis-à-vis des 2 organismes tests utilisés.

IV.3.12. Indice de Risque ($IR_{Eau-SEC}$) calculé selon l'approche « substances avec effets combinés »

Les données figurant dans la première section de la partie « Résultats » de ce document, portant sur l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants généralement présents dans les RUTP,

ont permis de mettre en évidence, pour certaines combinaisons des polluants, des effets de synergie et d'antagonisme significatifs vis-à-vis des organismes tests utilisés. En effet, en comparant ces résultats à l'intervalle [0,5 ; 2,0] proposé par Deneer [2000] pour qualifier les effets d'additifs, on constate que les valeurs de TI pour certains ratios de certains mélanges ($NH_4$50-Cu50 vis-à-vis de *D. magna*, par exemple) ne rentrent pas dans cette fourchette. Par conséquent, il n'est pas permis de conclure à des effets combinés de type « additif » pour tous les polluants et les mélanges étudiés. L'option de calculer l'indice de risque ($IR_{Eau\text{-}SEC}$) pour la « colonne d'eau », dans le cadre d'une approche « substances avec effets combinés », par la sommation des indices de risque individuels de chacun des traceurs retenus n'a donc pas été appliquée.

Toutefois, il est possible d'émettre l'hypothèse de l'existence d'un risque écotoxicologique accentué des polluants présents en mélange dans les RUTP, dans la mesure où des effets de synergie ont été observés pour certaines combinaisons de ces polluants.

IV.3.13. Indice de Risque ($IR_{Eau\text{-}MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

Pour l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques, le calcul de l'indice de risque pour la « colonne d'eau » a été réalisé en procédant au rapport « $PEC_{Eau\text{-}MBM}$/ $PNEC_{Eau\text{-}MBM}$ » pour le scénario étudié, sur la base des 2 situations proposées, les valeurs de $PEC_{Eau\text{-}MBM}$ utilisées étant le pourcentage volumique de RUTP dans la rivière Chaudanne pour chacune des situations proposées. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 65.

Tableau 65 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Eau\text{-}MBM}$) calculé pour les 2 situations étudiées pour la « colonne d'eau » dans le cadre d'une approche « matrice »

	Situation 1 (Jour du prélèvement)	Situation 2 ($Q_{Rivière}$ nul)
$IR_{Eau\text{-}MBM}$	3,55	60,10

Sur la base de notre approche « matrice », l'$IR_{Eau\text{-}MBM}$ obtenu se situe dans la fourchette des valeurs suivantes : 3,55 (situation 1 correspondant au jour du prélèvement) et 60,10 (situation 2 correspondant à un débit nul pour la rivière Chaudanne).

Les résultats obtenus pour les situations étudiées suivant une approche « matrice » mettent en évidence un risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne pour les situations étudiées car les indices de risque respectifs de chacune de ces 2 situations sont toujours supérieurs à 1.

$IR_{Eau\text{-}MBM} > 1$ ➡ existence d'un risque pour les organismes de la « colonne d'eau » de la rivière Chaudanne, sur la base d'une approche « matrice »

On notera que les IR calculés par les approches « substances » et « matrice » pour les organismes que la « colonne d'eau » sont cohérents.

IV.3.2. Caractérisation du risque pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne

IV.3.21. Indice de risque ($IR_{Séd-S}$) calculé selon l'approche « substances »

Le Tableau 66 présente les résultats du calcul de l'indice de risque pour le compartiment « sédiments » de la rivière Chaudanne, selon l'approche « substances » ($IR_{Séd-S}$). L'indice de risque pour chacun des traceurs retenus correspond au rapport « $PEC_{Séd-S}/PNEC_{Séd-S}$ ».

Tableau 66 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Séd-S}$) déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » de la rivière Chaudanne - Approche « substances »

Traceurs	$IR_{Séd-S}$
Cd	0,30
Cu	**525**
Ni	8,50
Pb	13,53
Zn	32,16

Les résultats figurant dans le tableau ci-dessus indiquent que l'$IR_{Séd-S}$ du Cu est la valeur la plus élevée qui est obtenue pour les organismes du sédiment, sur la base d'une approche « substances ». Le cuivre (Cu) est donc la substance qui permet d'estimer l'indice de risque pour les organismes du « sédiment » du scénario français étudié. Tout comme cela a été observé pour les organismes de la « colonne d'eau », c'est le Cu qui ressort comme étant le polluant le plus à risque pour les organismes du sédiment.

L'indice de risque obtenu pour les organismes du sédiment, sur la base d'une approche « substances », met en évidence un risque très important pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne puisqu'il est nettement supérieur à 1.

$IR_{Séd-S} > 1$ → existence d'un risque pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne, sur la base d'une approche « substances »

En comparant les indices de risque calculés selon une approche « substances » pour les organismes de la « colonne d'eau » et ceux du compartiment « sédiments », on constate que le risque est nettement plus important pour les organismes du « sédiment » ($IR_{Séd-S}$ = 525) que pour ceux de la « colonne d'eau » (IR_{Eau-S} variant de 6 à 100).

IV.3.22. Indice de Risque ($IR_{Séd\text{-}MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques

En ce qui concerne l'estimation du risque pour les organismes du « sédiment » au moyen d'une approche « matrice », elle est appréciée de manière qualitative dans le cadre de cette étude, sur la base des résultats obtenus pour les bioessais mis en œuvre sur les particules de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge.

La caractérisation écotoxicologique des particules de l'échantillon de RUTP du DO a conclu à un caractère toxique des particules vis-à-vis des organismes tests utilisés (*V. fischeri* et *H. incongruens*). Sur la base de cette conclusion, il est permis d'émettre l'hypothèse de l'existence d'un risque important pour les organismes du « sédiment » de la rivière Chaudanne lié à la présence des particules du RUTP du DO dans cette rivière. Cependant, à ce stade de l'étude, il est difficile de quantifier l'indice de risque associé à cette approche « matrice ».

IV.3.3. Synthèse de la caractérisation du risque dans le cadre de l'EDREcotox *a priori* réalisée pour le scénario de la ville française

Les résultats de cette EDREcotox, réalisée selon une approche *a priori*, pour le scénario français a permis de dégager les conclusions synthétisées dans le Tableau 67.

Tableau 67 : Caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base d'une EDREcotox *a priori*

Approches	IR_{Eau}		$IR_{Séd}$	Appréciation du risque pour le scénario français
	Jour du prélèvement	$Q_{Rivière}$ nul		
Substances	5	100	**525**	Existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes de la rivière Chaudanne
Substances avec effets combinés	> 5	> 100	**> 525**	Risque accentué en raison de la présence d'effets de synergie pour certaines combinaisons de métaux en mélange
Matrice au moyen de bioessais mono-spécifiques	3	60	**>> 1**	Existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes de la rivière Chaudanne

Les approches « substances » et « matrice » indiquent l'existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes de la « colonne d'eau » et pour les organismes du « sédiment ». Ce risque est plus important (surtout sur la base de l'approche « substances ») pour les organismes du « sédiment » (zones benthique et hyporhéique) exposés aux particules des RUTP. Pour les organismes de la « colonne d'eau », les approches « substances » et « matrice » aboutissent à des résultats cohérents.

EDREcotox LIEE AU DEVERSEMENT DE RUTP POUR UN SCENARIO HAITIEN

APPROCHE *A PRIORI*

V. APPLICATION SUR LA BASE D'UNE APPROCHE *A PRIORI* DE LA METHODOLOGIE D'EDRECOTOX PROPOSEE A UN SCENARIO HAÏTIEN

V.1. FORMULATION DU PROBLEME - SCENARIO HAÏTIEN

V.1.1. Introduction et contexte général du scénario etudié

Cette section du document est destinée à l'application, sur la base d'une approche *a priori*, de la méthodologie d'Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox), présentée dans la partie « Matériels et Méthodes », à un scénario d'une ville haïtienne. Ce scénario diffère de celui étudié pour la ville française en un point essentiel qui est le milieu récepteur ultime où ces rejets aboutissent (le fleuve Rhône en France, la mer au niveau de la Baie de Port-au-Prince en Haïti). Néanmoins, dans les deux cas, le milieu récepteur premier à préserver correspond à un cours d'eau (naturel ou artificiel) dont la faune et la flore sont à protéger.

Ce cours d'eau représenté par la rivière Chaudanne en France, correspond au Canal Bois-de-Chêne en Haïti. Ce canal, qui reçoit les RUTP de la ville de Port-au-Prince, draine une partie importante des RUTP de la ville jusqu'à la mer. Les critères qui ont porté à retenir ce canal ont été présentés dans le paragraphe II.2.111 de la partie « Matériels et Méthodes ».

La **Figure 54** présente des vues du Canal Bois-de-Chêne hors épisode pluvieux et au cours d'une pluie d'orage tropical. Hors épisode pluvieux, on observe un écoulement relativement faible dans le canal qui peut être considéré comme non-significatif par rapport au débit drainé par ce dernier à la suite d'une pluie.

Dans les deux cas, les rejets urbains correspondent à la majeure partie des eaux présentes dans le cours d'eau. Cette situation extrême, par rapport à la majorité des cours d'eau français ou de certains tronçons de certains cours d'eau haïtien, correspond à la situation extrême étudiée en France (quand la rivière Chaudanne est à sec, et que la majorité des eaux qui s'y écoulent suite à un orage estival est constituée par les RUTP du DO du Pont de la Barge).

Le bassin-versant (BV) de chacun des 2 points de prélèvement a été défini et présenté au moyen de la **Figure 25** : le premier BV (CSP) est celui du point se situant derrière le Collège Saint-Pierre (CSP), sur le prolongement de la Rue Légitime ; le second (JJD) est celui du point de prélèvement se situant à l'angle de la Rue Dehoux et du Boulevard Jean-Jacques Dessalines (JJD). Les principales caractéristiques de ces deux bassins-versants (BV CSP et BV JJD) ont été présentées de manière détaillée dans la section IV de la partie « Matériels et Méthodes ». Les paragraphes suivants reprennent les principales informations et hypothèses essentielles à la conduite de la méthodologie proposée.

Tronçon du canal hors épisode pluvieux	*Tronçon du canal au cours d'un épisode pluvieux*

Figure 54 : **Scénario haïtien - Vues du Canal Bois-de-Chêne à Port-au-Prince hors épisode pluvieux et au cours d'un épisode pluvieux (photos : Angerville, 2008)**

Dans le cadre de cette EDREcotox pour le scénario haïtien, un seul événement pluvieux a été étudié : celui du 04 septembre 2007 qui a donné lieu au prélèvement d'un échantillon de RUTP au niveau des deux points d'étude retenus.

V.1.2. Paramètres d'évaluation et modèle conceptuel

V.1.21. Stresseurs et source d'émission

Les stresseurs correspondent aux polluants présents dans les 2 échantillons de RUTP prélevés, tant sous la forme dissoute que sous la forme particulaire. A l'échelle globale, la source d'émission de ces stresseurs est le bassin-versant respectif de ces 2 points de prélèvement. Toutefois, de manière ponctuelle, les sources d'émission sont ramenées aux points de prélèvement des échantillons (points CSP et JJD).

Les principales considérations sur les catégories de stresseurs non pris en compte dans la méthodologie proposée s'appliquent également au scénario haïtien.

V.1.22. Ecosystème à protéger et organismes cibles

L'écosystème à protéger, en premier, est celui du Canal Bois-de-Chêne et les organismes cibles sont ceux vivant dans les deux compartiments de ce canal : la « colonne d'eau » et les « sédiments ».

V.1.23. Modèle conceptuel

Le modèle conceptuel général présenté dans la méthodologie d'EDREcotox proposée (**Figure 17**) est applicable au scénario étudié pour la ville haïtienne.

V.1.24. Plan d'analyse

Le plan d'analyse présenté dans la méthodologie d'EDREcotox proposée (Tableau 18) est applicable au scénario de déversement des RUTP dans le Canal Bois-de-Chêne.

V.2. PHASE D'ANALYSE - SCENARIO HAÏTIEN

V.2.1. Généralités

Pour la conduite de cette phase d'analyse, une campagne de prélèvements a été réalisée dans la soirée du 04 septembre 2007 qui a donné lieu à un prélèvement manuel de 2 échantillons : l'un au point CSP et l'autre au point JJD.

Les échantillons prélevés ont été transportés au laboratoire en vue d'être caractérisés d'un point de vue physico-chimique et d'un point de vue écotoxicologique. Les informations relatives à ces deux processus de caractérisation sont présentées dans la section IV de la partie « Matériels et Méthodes », et les principaux résultats obtenus dans la section III de la partie « Résultats » de ce document.

V.2.2. Caractérisation de l'exposition - Détermination des valeurs de PEC

V.2.21. Les polluants « traceurs » de risque pour les RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Les indications figurant dans le paragraphe II.2.221 des « Matériels et Méthodes » (page 135) ont été utilisées pour la sélection des polluants « traceurs » de risque. Les concentrations dosées, dans les échantillons bruts de RUTP, pour les traceurs de risque retenus sont utilisées dans la suite de cette EDREcotox menée sur la base d'une approche *a priori*.

V.2.211. Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau »

Le Tableau 68 présente les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau ». Ils ont été sélectionnés parmi les paramètres dosés dans les 2 échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, dont les résultats figurent dans le Tableau 54 de la partie « Résultats ».

Tableau 68 : Traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne exposés aux RUTP qui y sont déversés

Traceurs	Concentration (µg/L)	
	CSP	JJD
Ammonium	11900	27900
Cd	1,5	1,6
Cr	90	40
Cu	140	70
Ni	60	30
Pb	250	200
Zn	630	440

Les paramètres physico-chimiques dosés sur la fraction brute des échantillons prélevés dans le canal et qui ne sont pas retenus comme traceurs de risque pour les organismes de la « colonne d'eau » sont les suivants :

- les polluants figurant dans le Tableau 54 et qui sont dosés sous la forme d'un indice ou d'un groupe tels : les MES, la DCO, les ortho-phosphates ;
- les polluants non dosés dans les échantillons bruts de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, tels que : les HAP, les PCB, les pesticides, les éléments radioactifs, d'autres polluants minéraux ou organiques, ….

V.2.212. Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment »

Le Tableau 69 présente les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne. Ils correspondent aux paramètres dont les concentrations ont été estimées dans les particules des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne. Les critères de sélection des paramètres retenus à titre de traceurs de risque pour les organismes du « sédiment » sont les mêmes que ceux présentés précédemment pour la sélection des traceurs pour les organismes de la « colonne d'eau ».

Tableau 69 : Traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	Concentration (mg/kg MS)	
	CSP	JJD
Cd	2	4
Cu	210	210
Ni	90	80
Pb	370	620
Zn	900	1310

Le chrome (Cr) n'a pas été retenu parce que les données écotoxicologiques consultées ne permettent pas de déterminer la $PNEC_{Séd}$ pour cet élément.

V.2.22. Valeurs de PEC pour les organismes de la « colonne d'eau »

Les principales considérations à prendre en compte pour le calcul des valeurs de PEC_{Eau-S} ont été présentées au paragraphe IV.1.1. Toutefois, il a été fait l'hypothèse simplificatrice de ne considérer que les caractéristiques des échantillons de RUTP prélevés au niveau des 2 points retenus (CSP et JJD), et correspondant à l'événement pluvieux étudié. Les hypothèses et les calculs effectués sont présentés de façon plus détaillée dans les paragraphes suivants.

Il a été considéré dans le cadre du scénario d'Haïti que l'essentiel de l'eau présente dans le canal lors d'un épisode pluvieux correspond à des RUTP constitués essentiellement d'eau de lessivage des 2 bassins-versants étudiés. Ce choix repose sur 3 principaux critères :

1. la proportion d'eau issue des sources qui alimentent le canal est très faible ;
2. l'alimentation en eau potable en Haïti se fait de manière discontinue et avec des taux de couvertures en réseau d'eau potable qui sont très variables au sein d'un même bassin-versant. En se basant sur ces deux affirmations, on peut émettre l'hypothèse que l'essentiel du débit s'écoulant dans le canal, à la suite d'un épisode pluvieux, soit d'origine pluvial ;
3. si l'on considère les activités qui peuvent être qualifiées de « grande consommatrice d'eau », à l'exception des activités médicales, les principales industries installées à Port-au-Prince ne se retrouvent pas à l'intérieur des 2 bassins-versants définis dans le cadre du scénario étudié.

On peut donc dire que, lors d'un événement pluvieux, les organismes se retrouvent exposés à des RUTP quasiment non dilué. Dès lors, **le pourcentage volumique de RUTP dans le Canal Bois-de-Chêne est donc de 100%**. De ce fait, les valeurs de PEC_{Eau-S} correspondent aux concentrations dosées pour les polluants traceurs de risque dans les 2 échantillons bruts de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne. Ces valeurs de PEC_{Eau-S} sont présentées dans le Tableau 70.

Tableau 70 : Valeurs de PEC_{Eau} estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	PEC_{Eau-S} (µg/L)	
	CSP	JJD
Ammonium	11900	27900
Cd	1,5	1,6
Cr	90	40
Cu	140	70
Ni	60	30
Pb	250	200
Zn	630	440

V.2.23. Valeurs de PEC pour les organismes du « sédiment »

La même hypothèse que celle émise dans le cadre de l'application de la méthodologie proposée au scénario français est conservée ici. Il est donc fait l'hypothèse que les organismes benthiques, sont exposés à des sédiments constitués essentiellement de particules issues des RUTP, dans certaines zones du canal. Cette situation d'exposition peut être qualifiée de « plus défavorable » pour les organismes du « sédiment » du canal.

Par conséquent, les valeurs de $PEC_{Séd}$ correspondent aux concentrations dosées pour les traceurs de risques dans les particules des échantillons de RUTP prélevés au niveau des 2 points de prélèvement (CSP et JJD). Ces valeurs sont présentées dans le Tableau 71.

Tableau 71 : Valeurs de $PEC_{Séd}$ estimées pour les traceurs de risque retenus pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	$PEC_{Séd}$ (mg/kg MS)	
	CSP	JJD
Cd	2	4
Cu	210	210
Ni	90	80
Pb	370	620
Zn	900	1310

V.2.3. Caractérisation des effets écotoxicologiques - Détermination des valeurs de PNEC

Les effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP du Canal-Bois-de-Chêne ont été caractérisés selon l'approche décrite dans le paragraphe IV.5 des « Matériels et Méthodes ». La détermination des valeurs de PNEC pour ce scénario repose sur les considérations et les résultats provenant respectivement du paragraphe II.2.36 de la partie « Matériels et Méthodes » (page 155) et du paragraphe consacré au choix des polluants traceurs de risque pour ce scénario.

V.2.31. Approche « substances »

V.2.311. Valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne

Tout comme pour l'application de la méthodologie proposée au scénario français, le choix a également été fait de déterminer les valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ pour les traceurs de risque retenus pour les organismes du compartiment « colonne d'eau », en recherchant dans les Bases de Données Internationales (BDI) les valeurs de $PNEC_{Eau}$ proposée pour les milieux d'eau douce.

Les valeurs de $PNEC_{Eau-S}$ ainsi déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la « colonne d'eau » figurent dans Tableau 72, de même que les références concernant la source bibliographique d'où ces valeurs sont tirées.

Tableau 72 : Valeurs de $PNEC_{Eau}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour la « colonne d'eau » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	$PNEC_{Eau-S}$ (µg/L)	Références
Ammonium	1370	[SADA]
Cd	0,75	[INERIS, 2005e]
Cr	3,4	[INERIS, 2008c]
Cu	1,6	[INERIS, 2005f]
Ni	0,5	[INERIS, 2006b]
Pb	1,6	[INERIS, 2008c]
Zn	7,8	[INERIS, 2008c]

V.2.312. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne

Tout comme pour les traceurs de risque pour la « colonne d'eau », la détermination des valeurs de $PNEC_{Séd}$ adoptée pour les traceurs de risque pour le compartiment « sédiments » passe par une recherche dans les BDI de valeur de PNEC pour les sédiments en milieu d'eau douce. Ces valeurs ainsi que les sources consultées figurent dans le Tableau 73.

Tableau 73 : Valeurs de $PNEC_{Séd}$ déterminées pour les traceurs de risque retenus pour le compartiment « sédiments » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	$PNEC_{Séd}$ (mg/kg MS)	Références
Cd	2,3	[INERIS, 2008b]
Cu	0,8	[INERIS, 2005f]
Ni	4	[INERIS, 2006b]
Pb	6,8	[INERIS, 2003b]
Zn	37	[INERIS, 2005c]

V.2.32. Approche « matrice » par la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

V.2.321. Valeurs de $PNEC_{Eau-MBM}$ pour les organismes de la « colonne d'eau »

Pour déterminer la $PNEC_{Eau}$ pour les organismes de la « colonne d'eau » sur la base d'une approche « matrice » avec la mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques, on a retenu les résultats pour l'organisme test qui s'est révélé le plus sensible au sein de la batterie de bioessais mise

en œuvre. Les résultats de la caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne ont été présentés dans le paragraphe III.2 de la partie « Résultats ».

Pour le point CSP, c'est l'essai de toxicité chronique mis en œuvre vis-à-vis de *B. calyciflorus* qui s'est révélé le plus sensible de la batterie de bioessais mono-spécifiques testée sur la fraction « eau » (filtrat à 1,2 µm) de l'échantillon de RUTP prélevé en ce point. La valeur de CE_{20} obtenue pour le critère d'effet observé (la reproduction) est de **38,59%**.

Pour le point JJD, l'organisme qui s'est révélé le plus sensible, des organismes de la batterie de bioessais mono-spécifiques testée sur la fraction « eau » (filtrat à 1,2 µm) de l'échantillon de RUTP prélevé en ce point, est le *V. fischeri*. La valeur de CE_{20} obtenue pour l'essai d'inhibition de la luminescence de *V. fischeri* (30 mn) est de **19,21%**.

Les valeurs de CE_{20} sélectionnées pour la suite du processus d'EDREcotox lié aux RUTP du Canal Bois-de-Chêne sont donc de **38,59% pour CSP** et **19,21% pour JJD**.

En ce qui concerne le choix du facteur d'extrapolation devant conduire à la détermination de la $PNEC_{Eau}$ associée à chacun de ces points de prélèvement, il a été réalisé au regard de la batterie de bioessais mise en œuvre pour caractériser la fraction « eau » des échantillons prélevés. L'écotoxicité de cette fraction a été appréciée au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques constituée de 2 essais de toxicité aiguë et de 1 essai de toxicité chronique, les organismes utilisés appartenant à 2 niveaux trophiques.

Ces considérations, associées aux recommandations figurant dans le Technical Guidance Document [ECB, 2003] et repris par l'INERIS [2003a], ont conduit à choisir un facteur d'extrapolation de **75**. En effet, la batterie de bioessais mis en œuvre est intermédiaire aux situations pour lesquelles il est recommandé d'utiliser un facteur d'extrapolation de 100 (1 essai chronique au moyen d'organismes d'au moins 1 niveau trophique) ou un facteur de 50 (2 essais chroniques pour au moins 2 espèces représentant 2 niveaux trophiques).

Dès lors, la valeur de **$PNEC_{Eau-MBM}$** pour les organismes de la « colonne d'eau » sur la base des deux échantillons prélevés est de **0,51% pour le point CSP** et de **0,26% pour le point JJD**.

V.2.322. Valeurs de $PNEC_{Séd}$ pour les organismes du « sédiment »

Les deux essais (Vf 20 mn et Hi 6j) mis en œuvre sur les particules des échantillons de RUTP des 2 points de prélèvement dans le Canal Bois-de-Chêne ont révélé que ces particules sont toxiques vis-à-vis des organismes tests utilisés. Néanmoins, tout comme pour le scénario de la ville française, on a opté pour une appréciation qualitative du risque que ces particules présentent pour les organismes du « sédiment » du milieu récepteur. Ce choix ne requiert pas la détermination de valeur de $PNEC_{Séd}$. De ce fait, elle n'a pas été déterminée.

V.3. CARACTERISATION FINALE DU RISQUE POUR DES ORGANISMES DU CANAL BOIS-DE-CHENE EXPOSES AUX RUTP DEVERSES DANS CE CANAL, DANS LE CADRE D'UNE APPROCHE *A PRIORI*

V.3.1. Caractérisation du risque pour les organismes de la « colonne d'eau »

V.3.11. Indice de Risque (IR_{Eau-S}) calculé selon l'approche « substances »

Le calcul de l'indice de risque pour le compartiment de la « colonne d'eau » selon l'approche « substances » (IR_{Eau-S}) a été réalisé en procédant au rapport « $PEC_{Eau-S}/PNEC_{Eau-S}$ » pour chacun des traceurs de risque et pour les 2 points où les prélèvements ont été réalisés. Les résultats de ces calculs sont présentés dans le Tableau 74.

Tableau 74 : Valeurs de l'indice de risque IR_{Eau-S} calculé pour les organismes de la « colonne d'eau » pour les 2 points de prélèvement dans le Canal Bois-de-Chêne, dans le cadre d'une approche « substances »

Traceurs	IR_{Eau-S}	
	CSP	JJD
Ammonium	8,69	20,36
Cd	2	2,13
Cr	26,47	11,76
Cu	87,50	43,75
Ni	120	60
Pb	**156,25**	**125**
Zn	80,77	56,41

Pour les 2 points de prélèvement retenus, l'IR_{Eau-S} du Pb est la valeur la plus élevée obtenue, sur la base d'une approche « substances ». Le Plomb (Pb) est donc la substance qui détermine l'indice de risque pour les organismes de la « colonne d'eau » aussi bien pour le point CSP que pour le point JJD. L'IR_{Eau-S} le plus élevé obtenu est de 156,25 pour le point CSP et 125 pour le point JJD. On constate que ces 2 valeurs sont relativement proches mais avec un indice de risque plus important pour le point CSP.

Les résultats obtenus sur la base d'une approche « substances » mettent en évidence l'existence d'un risque pour les organismes de la « colonne d'eau » au niveau des 2 points de prélèvement retenus sur le Canal Bois-de-Chêne car l'indice de risque respectif de chacun de ces points est toujours supérieur à 1.

$IR_{Eau-S} > 1$ → existence d'un risque pour les organismes de la « colonne d'eau », sur la base d'une approche « substances »

V.3.12. Indice de Risque ($IR_{Eau\text{-}SEC}$) calculé selon l'approche « substances avec effets combinés »

Sur la base des mêmes indications et remarques que celles figurant dans le paragraphe IV.3.12 (page 299), il est possible d'émettre l'hypothèse (pour les organismes de la « colonne d'eau ») de l'existence d'un risque écotoxicologique accentué des polluants présents en mélange dans les RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne.

V.3.13. Indice de Risque ($IR_{Eau\text{-}MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

Pour l'approche « matrice » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques, le calcul de l'indice de risque pour la « colonne d'eau » a été réalisé en procédant au rapport « $PEC_{Eau\text{-}MBM}$/ $PNEC_{Eau\text{-}MBM}$ » pour le scénario étudié, pour les 2 points où les prélèvements ont été effectués. Les valeurs de $PEC_{Eau\text{-}MBM}$ utilisées étant le pourcentage volumique de RUTP dans le Canal Bois-de-Chêne. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 75.

Tableau 75 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Eau\text{-}MBM}$) calculé, sur la base d'une approche « matrice », pour les organismes de la colonne d'eau pour les 2 échantillons de RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne

	CSP	JJD
$IR_{Eau\text{-}MBM}$	194,35	390,42

Pour les 2 points de prélèvement, les $IR_{Eau\text{-}MBM}$ obtenus concluent à l'existence d'un risque écotoxicologique très important pour les organismes de la « colonne d'eau », sur la base de notre approche « matrice », puisque les 2 valeurs de $IR_{Eau\text{-}MBM}$ obtenues sont toujours largement supérieures à 1. On observe également que le risque est pratiquement 2 fois plus important au point JJD, que celui mis en évidence au niveau du point de prélèvement CSP.

$IR_{Eau\text{-}MBM} > 1$ ➡ **existence d'un risque pour les organismes de la « colonne d'eau », sur la base d'une approche « matrice »**

Tout comme cela a été mis en évidence dans le cadre de l'application de la méthodologie d'EDREcotox proposée au scénario français, on aboutit à des résultats cohérents entre les approches « substances » et « matrice » pour la « colonne d'eau ».

V.3.2. Caractérisation du risque pour les organismes du « sédiment »

V.3.21. Indice de risque ($IR_{Séd-S}$) calculé selon l'approche « substances »

Les résultats du calcul de l'indice de risque pour le compartiment « sédiment », selon l'approche « substances » ($IR_{Séd-S}$), sont présentés dans le Tableau 76. L'indice de risque pour chacun des traceurs de retenus correspond au rapport « $PEC_{Séd}/PNEC_{Séd}$ ».

Tableau 76 : Valeurs de l'indice de risque ($IR_{Séd-S}$) déterminées pour les organismes du « sédiment » du Canal Bois-de-Chêne

Traceurs	$IR_{Séd-S}$	
	CSP	JJD
Cd	0,87	1,74
Cu	**262,50**	**262,50**
Ni	22,50	20
Pb	54,41	91,18
Zn	24,32	35,41

Les résultats ci-dessus indiquent que l'$IR_{Séd-S}$ du Cu est la valeur la plus élevée qui est obtenue pour les organismes du « sédiment », sur la base d'une approche « substances ». Pour le scénario haïtien étudié, c'est le cuivre (Cu) qui est la substance qui détermine l'indice de risque écotoxicologique pour les organismes du « sédiment ». Indépendamment du point de prélèvement, le risque est pratiquement le même pour les organismes du sédiment car les valeurs de $IR_{Séd-S}$ sont équivalents.

Les indices de risque obtenus pour les organismes du sédiment, sur la base d'une approche « substances », mettent en évidence un risque très important pour les organismes du « sédiment » puisqu'ils sont nettement supérieurs à 1.

$IR_{Séd-S} > 1$ → existence d'un risque pour les organismes du « sédiment », sur la base d'une approche « substances »

En comparant les indices de risque calculés selon une approche « substances » pour les organismes de la « colonne d'eau » et ceux calculés pour le compartiment « sédiments », on constate que ces indices sont plus élevés pour les organismes du « sédiment », indépendamment du point de prélèvement.

V.3.22. Indice de Risque ($IR_{Séd-MBM}$) calculé selon l'approche « matrice » avec mise en œuvre de bioessais mono-spécifiques

Pour l'estimation du risque pour les organismes du « sédiment » au moyen d'une approche « matrice », l'appréciation qualitative de ce risque a également été retenue pour le scénario haïtien.

Cette appréciation se base sur les résultats obtenus pour les bioessais mis en œuvre sur les particules des échantillon de RUTP du Canal Bois-de-Chêne.

La caractérisation écotoxicologique des particules des échantillons de RUTP du canal au niveau des points CSP et JJD a conclu à un caractère toxique de ces particules vis-à-vis des organismes tests utilisés (*V. fischeri* et *H. incongruens*). En se référant à cette conclusion, il est permis d'émettre l'hypothèse de l'existence d'un risque important pour les organismes du « sédiment ». Ce risque est lié à la présence massive des particules des échantillons de RUTP dans les sédiments. Sur la base de ces mêmes résultats, il est permis d'émettre l'hypothèse d'un risque plus important au niveau du point JJD, car les effets des particules de l'échantillon JJD sur les organismes du « sédiment » sont plus prononcés (par exemple, les résultats vis-à-vis des ostracodes).

V.3.3. Synthèse de la caractérisation du risque dans le cadre de l'EDREcotox *a priori* réalisée pour le scénario de la ville haïtienne

L'EDREcotox réalisée selon une approche *a priori* pour le scénario haïtien a permis de dégager les conclusions synthétisées dans le Tableau 77.

Tableau 77 : Caractérisation du risque pour les organismes du Canal Bois-de-Chêne sur la base d'une EDREcotox *a priori*

Approches	IR_{Eau}		$IR_{Séd}$		Appréciation du risque pour le scénario haïtien
	CSP	JJD	CSP	JJD	
Substances	156	125	**262**	**262**	Existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes du Canal Bois-de-Chêne, au niveau des deux points de prélèvement
Substances avec effets combinés	> 156	> 125	**> 262**	**> 262**	Risque accentué en raison de la présence d'effets de synergie pour certaines combinaisons de métaux en mélange
Matrice au moyen de bioessais mono-spécifiques	194	390	**>> 1**	**>> 1**	Existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes du Canal Bois-de-Chêne, au niveau des deux points de prélèvement

Les approches « substances » et « matrice » indiquent l'existence d'un risque écotoxicologique important pour les organismes de la « colonne d'eau » et pour les organismes du « sédiment », indépendamment du point de prélèvement. Ce risque est plus important pour les organismes du « sédiment » exposés aux particules de ces échantillons de RUTP. Pour les organismes de la « colonne d'eau », les approches « substances » et « matrice » aboutissent à des résultats cohérents, mais les résultats obtenus au moyen de l'approche « matrice » mettent en évidence un risque plus important pour les organismes de la « colonne d'eau », surtout en ce qui concerne le point JJD (l'indice de risque calculé selon l'approche « matrice » est au moins 3 fois plus important que l'indice calculé selon l'approche « substances »).

EDREcotox POUR LE COURS D'EAU DU SCENARIO FRANÇAIS AU MOYEN D'ESSAIS D'ECOTOXICITE EN LABORATOIRE

APPROCHE *A POSTERIORI*

VI. EDRECOTOX POUR LA RIVIERE CHAUDANNE DANS LE CADRE D'UNE APPROCHE *A POSTERIORI* AU MOYEN D'ESSAIS EN LABORATOIRE

VI.1. INTRODUCTION

Le Tableau 95 constitue une synthèse des informations relatives aux échantillons de la rivière Chaudanne à Grézieu-La-Varenne (France), pour les 3 stations d'étude. Il présente également les informations concernant la démarche mise en œuvre pour la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique de ces échantillons.

Tableau 78 : Grille expérimentale relative à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de la rivière Chaudanne

Prélèvement				
	Date		15 février 2008	
	Nature de l'échantillon		Eau de Surface (ES), échantillon benthique (B) et échantillon Hyporhéique (H)	
	Lieu de prélèvement		Rivière Chaudanne à Grézieu-La-Varenne	
Caractérisation physico-chimique				
	Mesures *in situ* (Données CEMAGREF de Lyon)		pH, T, Conductivité, O_2 dissous pour les échantillons bruts de la zone hyporhéique	
	Sur échantillons bruts et/ou décantés et/ou filtrés		Paramètres globaux (DCO, MES), métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn)	
	Sur particules et sédiments		Métaux (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn) Matière sèche Perte au feu	
			Granulométrie	
Caractérisation écotoxicologique en laboratoire				
	Toxicité aiguë	Stations S2, S3, S4 et point S4-H3	*Daphnia magna* 24 et 48h (Dm)	Eau Surface et « Eau et particules » pour zones B et H
		Stations S2, S3, S4 et point S4-H3	*Vibrio fischeri* 30 min (Vf 30mn) *Pseudokirchneriella subcapitata* 72h (Ps 72h)	Eau Surface et « Eau et particules » pour zone H
		Stations S2, S3, S4 et point S4-H3	*Vibrio fischeri* 20 min (Vf 20mn)	Sédiments pour zones B et H
	Toxicité chronique	Stations S2, S3, S4 et point S4-H3	*Brachionus calyciflorus* (Bc 48h)	Eau Surface et « Eau et particules » pour zone H
		Stations S2, S3, S4 et point S4-H3	*Heterocypris ioncongruens* 6j (Hi 6j)	Eau Surface et « Eau et particules » et sédiments pour zones B et H

VI.2. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES ECHANTILLONS DE LA RIVIERE CHAUDANNE

VI.2.1. Présentation et analyse des résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'étude

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne sont présentés dans l'ordre suivant : (i) les mesures réalisées *in situ* par le CEMAGREF de Lyon pour les échantillons de la zone hyporhéique (Tableau 79) ; (ii) les mesures réalisées en laboratoire (Tableau 80) ; (iii) les résultats des concentrations en métaux dissous et des concentrations en métaux dans les « particules fines » et les sédiments $\leq$ 2 mm.

VI.2.11. Mesures *in situ* pour les échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude

Le Tableau 79 présente les résultats pour les paramètres globaux mesurés pour les échantillons de la zone hyporhéique au moment du prélèvement. Ces mesures ont été réalisées par le CEMAGREF de Lyon.

Tableau 79 : Mesures *in situ* réalisées pour les échantillons de la zone hyporhéique pour les 3 stations d'étude

Paramètres / Echantillons		pH	T (°C)	Conductivité (µS/cm)	O_2 dissous (mg/L)
Station S2					
Station 2 - Eau hyporhéique - Seuil	**S2-H**	6,7	4,0	361	9,0
Station S3					
Station 3 - Eau hyporhéique - Amont Seuil	**S3-H1**	6,7	3,8	355	9,1
Station 3 - Eau hyporhéique - Seuil	**S3-H2**	5,7	4,8	355	5,8
Station 3 - Eau hyporhéique - Aval Seuil	**S3-H3**	6,8	3,7	357	10,3
Station S4					
Station 4 - Eau hyporhéique - Amont Seuil	**S4-H1**	5,9	5,3	928	1,7
Station 4 - Eau hyporhéique - Seuil	**S4-H2**	6,8	4,3	421	9,1
Station 4 - Eau hyporhéique - Aval Seuil	**S4-H3**	5,8	5,3	831	0,6

VI.2.111. Le pH

Les valeurs de pH mesurées pour les échantillons de la zone hyporhéique se situent entre 5,7 et 6,8 pour l'ensemble des points prélevés. Quand on prend uniquement les valeurs pour les seuils, elles sont également comprises entre 5,7 et 6,8 ; la plus faible valeur correspond à l'échantillon S3-H2.

Les échantillons S2-H2 et S4-H2 (6,7 et 6,8 respectivement) présentent des valeurs qui sont du même ordre de grandeur.

Si on s'intéresse au point amont-seuil (H1) et aval-seuil (H3) pour les stations 3 et 4, on constate que les valeurs de pH sont du même ordre de grandeur entre les points amont et aval d'une même station, ceci dans les 2 cas. On constate également que, pour la zone hyporhéique, les pH amont-seuil et aval-seuil pour la station S3 sont supérieurs au pH amont-seuil et aval-seuil de la station S4.

En comparant les valeurs de pH mesurées (amont-seuil, seuil et aval seuil confondus) pour la zone hyporhéique à celles figurant dans la thèse de Vivier [2006] on constate que les valeurs de pH du Tableau 79 sont très proches des fourchettes de valeurs qu'elle donne pour chacune des 3 stations d'étude : S2-H (6,87 ; 9,05) ; S3-H (7,10 ; 8,27) ; S4-H (7,00 ; 8,15).

VI.2.112. La température

Pour les échantillons hyporhéiques, la température est comprise entre 3,7 °C et 4,0 °C. Les températures mesurées (en hiver) sont, pour tous les points confondus, inférieures à la température de 6,4 °C indiquée par Vivier [2006] pour des eaux hypothéiques en hiver.

VI.2.113. La conductivité

Les mesures de conductivité pour les échantillons de la zone hyporhéique sont comprises entre 355 µS/cm et 928 µS/cm. Les plus importantes valeurs ont toutes été mesurées pour les échantillons hyporhéique de la station 4. Les échantillons des stations 3 et 4 ont des valeurs de conductivité très proches.

En comparant les valeurs de coductivité mesurées (amont-seuil, seuil et aval seuil confondus) pour la zone hyporhéique à celles figurant dans la thèse de Vivier [2006], on constate que les valeurs figurant dans le Tableau 79 sont dans la fourchette des valeurs qu'elle donne pour les stations 2 et 3 : S2-H (253,33 ; 458,33) ; S3-H (228,33 ; 633,33). En ce qui concerne la station 4, les valeurs mesurées sont supérieures à la fourchette de valeurs pour cette station (S4-H : 371,67 ; 650,00), à l'exception de la conductivité au niveau du seuil (S4-H2 : 421 µS/cm) qui est à l'intérieur de cette fourchette.

VI.2.114. L'oxygène dissous

Les concentrations en oxygène dissous mesurées se situent entre 0,6 mg/L et 10,3 mg/L pour les échantillons de la zone hyporhéique. Les 2 plus faibles concentrations ont été mesurées au niveau des points amont-seuil (1,7 mg/L) et aval-seuil (0,6 mg/L) de la station S4, alors qu'au niveau du seuil de cette même station, la concentration en oxygène dissous est de 9,1 mg/L.

Pour la station 3, on est en présence de l'inverse de ce qui est observé au niveau de la station 4. C'est-à-dire que les plus fortes concentrations en oxygène dissous correspondent aux échantillons amont-seuil et aval-seuil de cette station, tandis qu'au niveau du seuil l'oxygène dissous est dosé à 5,8 mg/L.

Aucun déficit en oxygène dissous n'est relevé au niveau du seuil de la station S2 puisque la concentration en oxygène dissous au niveau de ce point est de 9,1 mg/L.

VI.2.12. Mesures en laboratoire : Ammonium, MES, Matière sèche, Perte au feu et DCO

Le Tableau 80 et le Tableau 81 présentent les résultats des paramètres physico-chimiques dosés, au laboratoire, dans les échantillons des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne. A l'exception de l'ammonium qui a été dosée par le CEMAGREF de Lyon ([Namour, 2008]), pour les autres paramètres figurant dans ces tableaux, les analyses ont été réalisées au laboratoire POLDEN.

Des analyses de métaux ont également été réalisés sur ces mêmes échantillons mais les résultats sont présentés séparement, dans le paragraphe VI.2.13 ci-dessous.

VI.2.121. L'ammonium

L'ammonium (NH_4^+) a été dosé dans les 3 échantillons d'eau de surface (ES). Les concentrations mesurées sont comprises entre 0,04 et 1,5 mg/L. La plus faible concentration a été dosée dans l'échantillon de la station 2 (S2-ES) et la plus forte dans la station 4 (S4-ES). La concentration en NH_4^+ de l'échantillon S3-ES est nettement moins importante (0,1 mg/L) que celle dosée dans l'échantillon S4-ES (1,5 mg/L).

Les concentrations dosées dans les échantillons d'eau de surface se trouvent dans la fourchette des valeurs présentées par Vivier [2006] pour des échantillons d'eaux superficielles de la rivière Chaudanne pour ces mêmes stations d'étude : S2 (0,00 ; 0,99) ; S3 (0,00 ; 8,35) ; S4 (0,00 ; 2,25). On peut également constater que les concentrations mesurées sont, dans l'ensemble, inférieures aux concentrations maximales déjà rencontrées pour des mesures antérieures au niveau des 3 stations d'étude.

VI.2.122. Les MES

Les concentrations en MES ont été dosées dans les 3 échantillons d'eau de surface (ES). Les valeurs mesurées sont comprises entre 2,00 et 16,7 mg/L. La plus faible concentration a été dosée dans l'échantillon de la station 2 (S2-ES) et la plus forte dans la station 3 (S3-ES).

Les concentrations dosées dans les échantillons d'eau de surface se trouvent dans la fourchette des valeurs présentées par Vivier [2006] pour des échantillons d'eaux superficielles de la rivière Chaudanne pour ces mêmes stations d'étude : S2 (0,00 ; 59,00) ; S3 (0,00 ; 94,00) ; S4 (4,00 ; 403,00). Les concentrations en MES mesurées dans le cadre de cette campagne de prélèvement sont très faibles, si on les compare à ces fourchettes de valeurs.

Tableau 80 : Résultats de paramètres dosés en laboratoire pour les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Paramètres	Unités	Eau de Surface			Zone benthique			Zone hyporhéique							
		Echantillons bruts			Sédiments grossiers (SG)			Eau et particules fines (EPF)				Sédiments grossiers (SG)			
		S2-ES	S3-ES	S4-ES	S2-B	S3-B	S4-B	S2-H " EPF "	S3-H " EPF "	S4-H " EPF "	S4-H3 " EPF "	S2-H " SG "	S3-H " SG "	S4-H " SG "	S4-H3 " SG "
Ammonium	mg/L	0,04	0,1	1,5											
MES	mg/L	2,0	16,7	10,0											
Matière Sèche (MS)	%				73,6	75,5	75,2	0,6	0,7	2,6	1,6	73,5	73,5	75,8	76,8
Perte au feu	g/kg				9,2	7,4	9,0	129	81	105	175	4,8	4,7	6,0	11,6

VI.2.123. Matière Sèche

La teneur en **matière sèche (MS)** a été déterminée pour les échantillons de la zone benthique et pour les 2 fractions des échantillons hyporhéiques : la fraction « Eau et particules fines (EPF) » et la fraction « Sédiments grossiers (SG) ». Ces deux fractions ont été séparées selon le protocole décrit dans le paragraphe V.5.4 de la partie « Matériels et Méthodes ».

Pour les échantillons de la zone benthique, les teneurs en MS sont du même ordre de grandeur pour les 3 stations (entre 73,6% et 75,5%).

En ce qui concerne la zone hyporhéique, les teneurs en MS sont comprises entre 0,6% et 2,6% pour la fraction « Eau et particules fines ». Les teneurs les plus faibles ont été mesurées au niveau des stations 2 et 3 et la plus importante au niveau de la station 4. Pour les sédiments plus grossiers (SG) de la zone hyporhéique, les teneurs en MS sont du même ordre de grandeur pour les 3 stations (entre 73,5% et 75,8%).

Pour le point aval-seuil de la station 4 (S4-H3), la teneur en MS mesurée pour la fraction « Eau et particules fines (EPF) » est inférieure à celle mesurée pour l'échantillon moyen (S4-H) ; pour la fraction (SG), la teneur en MS est légèrement supérieure à celle de l'échantillon moyen.

VI.2.124. Perte au feu

Tout comme pour la teneur en MS, la **perte au feu** a été déterminée pour les échantillons de la zone benthique et pour les 2 fractions des échantillons hyporhéiques : la fraction « Eau et particules fines (EPF) » et la fraction « Sédiments grossiers (SG) ». Ces deux fractions ont été séparées selon le protocole décrit dans le paragraphe V.5.4 de la partie « Matériels et Méthodes ».

Pour les échantillons de la zone benthique, les valeurs de perte au feu sont relativement faibles (< 10 g/kg MS) pour les 3 stations. La perte au feu la plus faible, 7,4 g/kg MS, a été mesurée pour l'échantillon de la station 3 (S3-B).

Pour la zone hyporhéique, les valeurs de perte au feu sont comprises entre 81 g/kg MS et 129 g/kg MS pour la fraction « Eau et particules fines ». La perte au feu la plus importante a été mesurée pour la fraction EPF de la station 2 (S2-H « EPF » : 129 g/kg MS). En ce qui concerne les sédiments plus grossiers (SG) de la zone hyporhéique, les valeurs de perte au feu sont globalement < 10 g/kg MS.

Pour le point aval-seuil de la station 4 (S4-H3), la perte au feu mesurée pour la fraction « Eau et particules fines (EPF) » (175 g/kg MS) est supérieure à celle de l'échantillon moyen (S4-H : 105 g/kg MS) ; pour la fraction (SG), la perte au feu pour l'échantillon S4-H3 (11,6 g/kg MS) est pratiquement le double de celle de l'échantillon moyen (S4-H : 6 g/kg MS).

Globalement, ces valeurs de perte au feu permettent de dire que le pourcentage de matière oganique contenue dans ces échantillons, ceci pour toutes les stations confondues, est : voisin de 1% pour les sédiments de la zone benthique ; voisin de 0,6% pour les sédiments de la zone hyporhéique

(à l'exception du point S4-H3 pour lequel il est de 1,2%) ; et < 20% pour la fraction « Eau et particules fines (EPF) » de la zone hyporhéique.

VI.2.125. Valeurs de DCO

Le Tableau 81 présente les résultats des mesures de DCO réalisées pour les échantillons des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne.

Tableau 81 : Mesures de DCO réalisées pour les échantillons des 3 stations d'étude

Echantillons	Identifiant	DCO (mg/L)
Eau de Surface		
Station 2	S2 - ES	24
Station 3	S3 - ES	26
Station 4	S4 - ES	27
Zone benthique - Eau et particules		
Station 2	S2 - B	148
Station 3	S3 - B	> LQ_1
Station 4	S4 - B	114
Zone hyporhéique - Eau et particules		
Station 2 (Seuil)	S2 - H	1045
Station 3 (Echantillon moyen)	S3 - H	1010
Station 4 (Echantillon moyen)	S4 - H	> LQ_2
Station 4 (Aval seuil)	S4 - H3	ND

LQ_1 : 150 mg/L ; LQ_2 : 1500 mg/L ; ND : Non Déterminé

Pour les échantillons d'**eau de surface (ES)**, les valeurs de DCO mesurées sont du même ordre de grandeur pour les 3 stations d'étude. Ces valeurs indiquent que les échantillons d'eau de surface contiennnent une faible concentration de substances organiques oxydables.

Pour la **zone benthique**, les valeurs mesurées sont < 150 mg/L pour les stations S2 et S4, tandis que pour la station S3, la DCO est supérieure à 150 mg/L. La concentration des matières organiques oxydables présents dans ces échantillons est au moins 6 fois plus importante que celle dosée dans les échantillons d'eau de surface.

En ce qui concerne la **zone hyporhéique**, les valeurs de DCO mesurées sont < 1100 mg/L pour les stations S2 et S3 tandis que pour la station S4, la DCO est > 1500 mg/L. Pour le point S4-H3, la DCO

mesurée étaient > à la limite de quantification haute (LQ_2)de la technique utilisée. Ces valeurs de DCO révèlent une importante concentration en matières organiques oxydables dans les échantillons de la zone hyporhéique, comparativement aux valeurs de DCO pour les échantillons benthiques.

VI.2.13. Concentration des métaux dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

VI.2.131. Métaux dissous

Le résultats des concentrations en métaux dissous pour les 3 stations d'étude sont présentés sous la forme d'histogrammes et sont exprimés en µg/L. L'ordre de présentation est la suivante : (i) concentration en métaux dissous pour les échantillons d'eau de surface (**Figure 55**) ; (ii) concentration métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone benthique (**Figure 56**) ; (iii) concentration en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone hyporhéique (**Figure 57**). Les valeurs numériques des concentrations dosées pour tous les points figurent en annexe de ce document (voir Annexe J).

Filtrats à 0,45 µm des échantillons d'Eau de Surface (ES)

La **Figure 55** présente les résultats des concentrations en métaux dissous dosés dans les échantillons d'eau de surface prélevés au niveau des 3 stations d'étude. L'analyse de ce graphique indique que le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le zinc (Zn) dissous n'ont pas été détectés dans les 3 échantillons.

L'élément qui présente la plus importante concentration dosée est le cuivre (Cu) au niveau de la station S4 (4,4 µg/L). Sinon, pour les stations S2 et S3, les concentrations en Cu sont du même ordre de grandeur.

La station S4 constitue la station pour laquelle les concentrations en chrome (Cr) et nickel (Ni) dissous sont les plus faibles. Pour la station S3, les concentrations en Cr et Ni sont équivalentes.

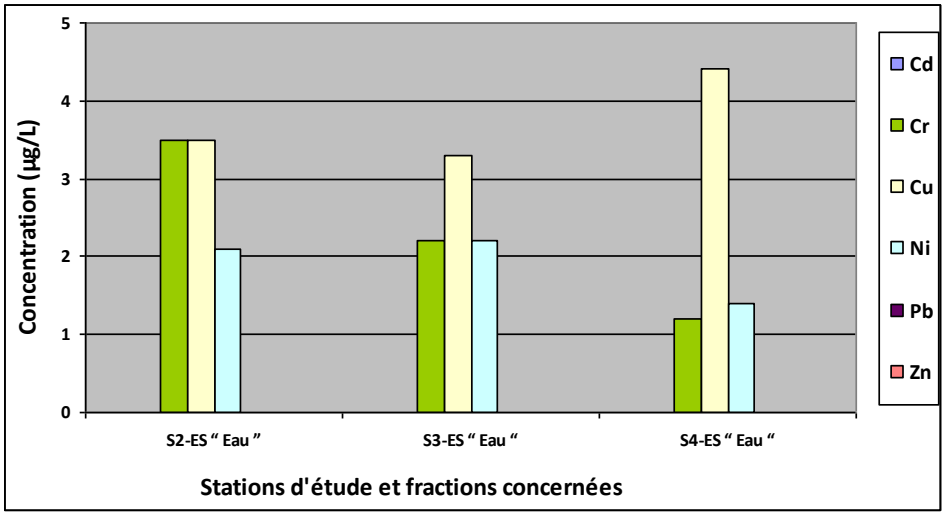


Figure 55 : **Concentrations en métaux dissous dosés dans les échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude**

Filtrats à 0,45 µm des surnageants des échantillons de la zone benthique(B)

Les résultats des concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone benthique des 3 stations d'étude sont présentés dans la **Figure 56**. Ce graphique indique que le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) dissous n'ont pas été détectés dans les surnageants des 3 échantillons. Le zinc (Zn) dissous figure également parmi les éléments non détectés mais uniquement dans le surnageant de la station S2.

L'élément présentant la plus forte concentration dosée est le Zn pour le surnageant de la zone benthique de la station S4 (160 µg/L). Pour la station S3, la concentration en Zn dissous est du même ordre de grandeur que celle de la station S4.

Le surnageant de la zone benthique de la station S4 présente les plus faibles concentrations en cuivre (Cu) et en chrome (Cr) dissous. En ce qui concerne le nickel (Ni) dissous les concentrations dosées sont comprises entre 1,8 µg/L (S4) et 2,3 µg/L (S2).

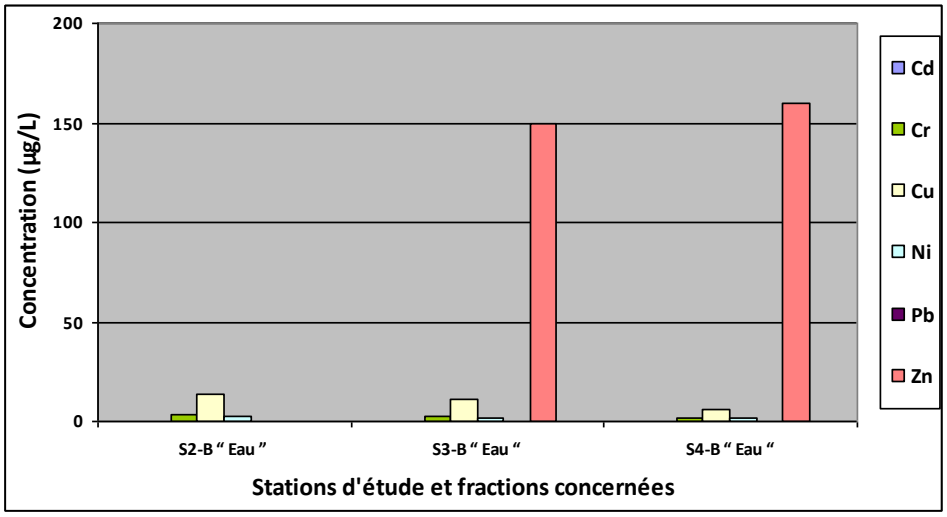


Figure 56 : **Concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone benthique des 3 stations d'étude**

Filtrats à 0,45 µm des surnageants des échantillons de la zone hyporhéique (H)

La **Figure 57** présente les résultats des concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude. On constate que le Cd, et le Pb dissous n'ont pas été détectés dans les surnageants des 3 échantillons.

Le zinc (Zn) dissous figure également parmi les éléments non détectés mais uniquement dans le surnageant de la station S2 et S4. Alors que, pour la station S2, le Zn est l'élément présentant la plus forte concentration dosée, sous la forme dissoute, dans le surnageant de la zone hyporhéique de la station S2 (240 µg/L).

Pour le Cr et le Ni, les concentrations en éléments dissous dosés pour les 3 stations sont du même ordre de grandeur. En ce qui concerne le Cu dissous, la concentration dosée au niveau de la station S2 est légèrement supérieure à celle dosée pour les stations S3 et S4.

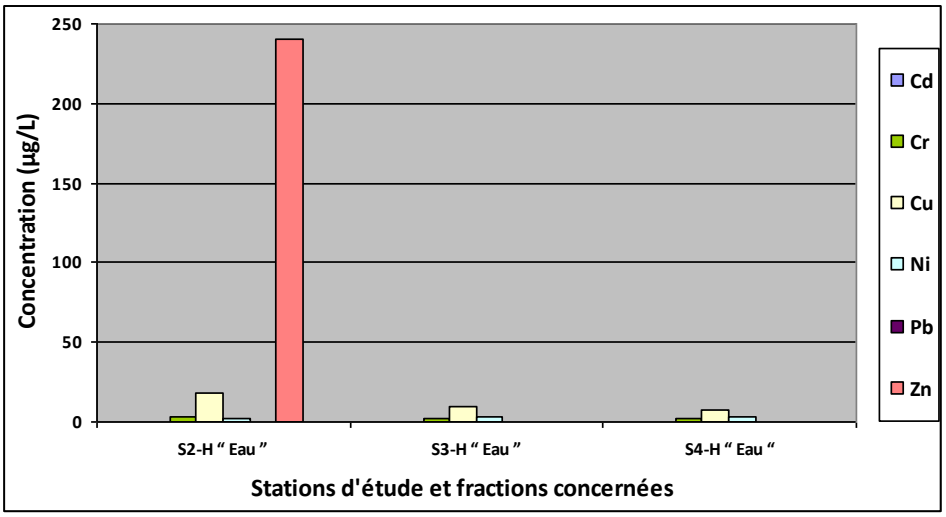


Figure 57 : **Concentrations en métaux dissous dosés dans les surnageants des échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude**

VI.2.132. Concentration des métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers

Nous avons conservé la même forme de présentation (histogrammes) et le même ordre de présentation que ceux utilisés pour les résultats des métaux dissous : (i) concentration dans les particules des échantillons d'eau de surface (**Figure 58**) ; (ii) concentration dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique (**Figure 59**) ; (iii) concentration dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone hyporhéique (**Figure 60**). Les résultats sont exprimés en mg/kg de Matière Sèche (MS). Les valeurs numériques des concentrations dosées figurent en annexe de ce document (voir Annexe J).

En raison des différents ordres de grandeur entre les concentrations en cadmium (Cd) et les concentrations dosées pour les autres métaux, les résultats pour le Cd sont présentés au moyen d'un graphique séparé pour chacun des cas (eau de surface, échantillons benthiques, échantillons hyporhéiques).

Particules des échantillons d'Eau de Surface (ES)

La **Figure 58** présente les résultats des concentrations en métaux dosés dans les particules des échantillons d'eau de surface prélevés au niveau des 3 stations d'étude. Le premier graphique indique la présence de Cd dans les particules des échantillons des stations S3 et S4 en proportion

équivalente (0,03 mg/kg MS). Pour la station S2, le Cd n'a pas été retrouvé à une concentration détectable.

Pour les métaux Cr, Cu, Ni et Pb, les concentrations dosées dans les particules des eaux de surface sont globalement inférieures à 10 mg/kg MS pour les stations S2 et S3 tandis que pour la station S2 les concentrations sont globalement inférieures à 4 mg/kg MS (voir données numériques en annexe).

En ce qui concerne le Zn, il constitue le métal que l'on retrouve à la plus forte concentration dans les 3 échantillons. L'échantillon de la station S3 présente la plus importante concentration en Zn particulaires (94,8 mg/kg MS). Les stations S2 et S4 présentent des concentrations en Zn particulaires qui sont du même ordre de grandeur.

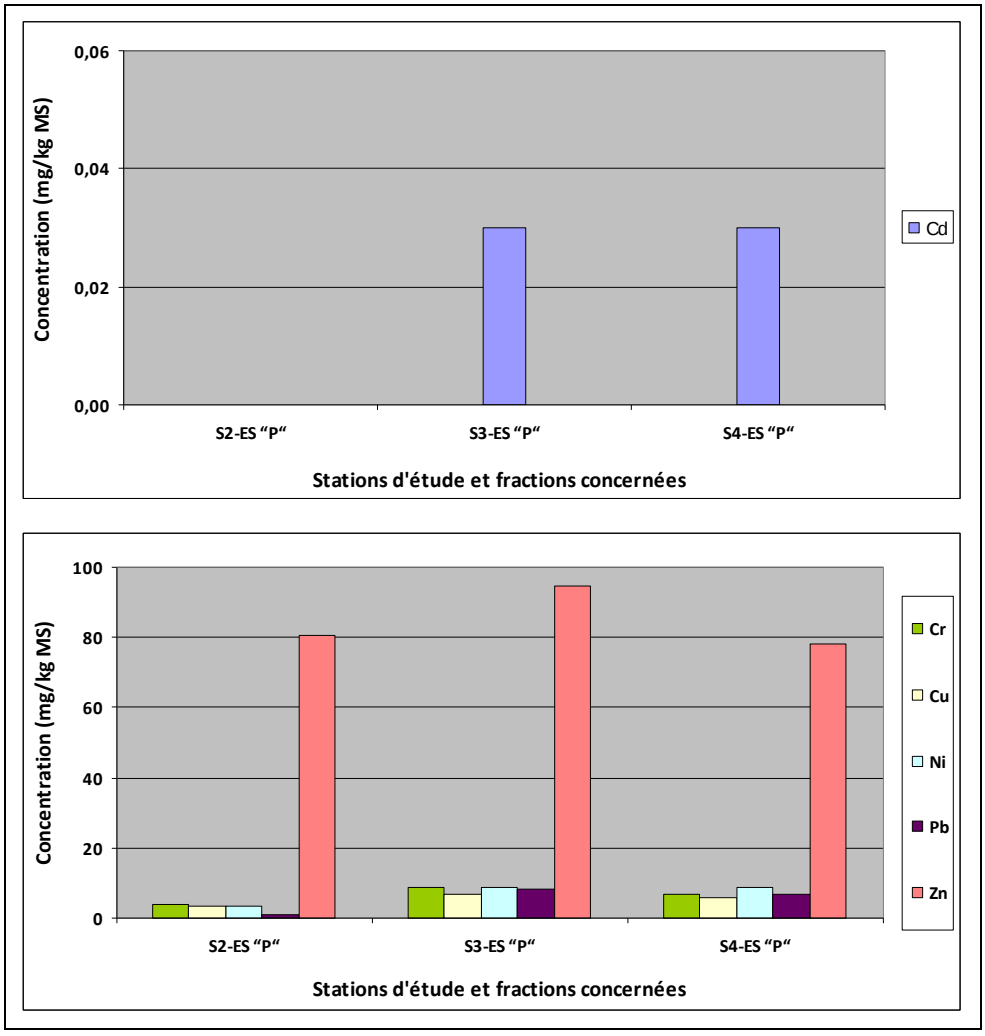


Figure 58 : **Concentrations en métaux dosés dans les particules des échantillons d'eau de surface pour les 3 stations d'étude**

Particules fines et sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique (B)

La **Figure 59** présente les résultats des concentrations en métaux dosés dans les particules fines (PF) et les sédiments grossiers (SG) des échantillons benthiques des 3 stations d'étude. Le premier constat qu'il est permis de faire en observant ces deux graphiques, c'est que les concentrations des 6 métaux dosés dans ces échantillons sont toujours supérieures dans la fraction « particules fines (PF) » à celles dosées dans la partie « sédiments grossiers (SG) », ceci indépendamment de la station considérée.

Quand on fait la comparaison en fonction des stations d'étude, on constate que :

- **pour les « particules fines (PF) »** : les concentrations en Cd augmentent graduellement, en passant de 0,06 mg/kg MS pour S2-B « PF » à 0,23 mg/kg MS pour S4-B « PF ». Cette même observation d'augmentation graduelle est faite pour le Cu, le Pb, et le Zn mais à des concentrations plus importantes que celles du Cd. Pour le Cr et le Ni, les concentrations dosées pour les fractions S3-B « PF » et S4-B « PF » sont pratiquement équivalentes, alors que ces 2 métaux sont dosés à une concentration inférieure dans la fraction S2-B « PF » ;

- **pour les « sédiments grossiers (SG) »** : les concentrations en Cd sont pratiquement du même ordre de grandeur pour les 3 stations mais avec une concentration légèrement supérieure pour S3-B « SG » par rapport à S2-B « SG » ou S4-B « SG ». Pour le Cr, le Cu, le Ni et le Pb, les concentrations dosées pour ces métaux sont pratiquement équivalentes entre elles, métal par métal, pour les 3 stations. En ce qui concerne le Zn, les concentrations dosées pour les fractions S3-B « SG » et S4-B « SG » sont pratiquement équivalentes, alors que ce métal est dosé à une concentration inférieure dans la fraction S2-B « SG ».

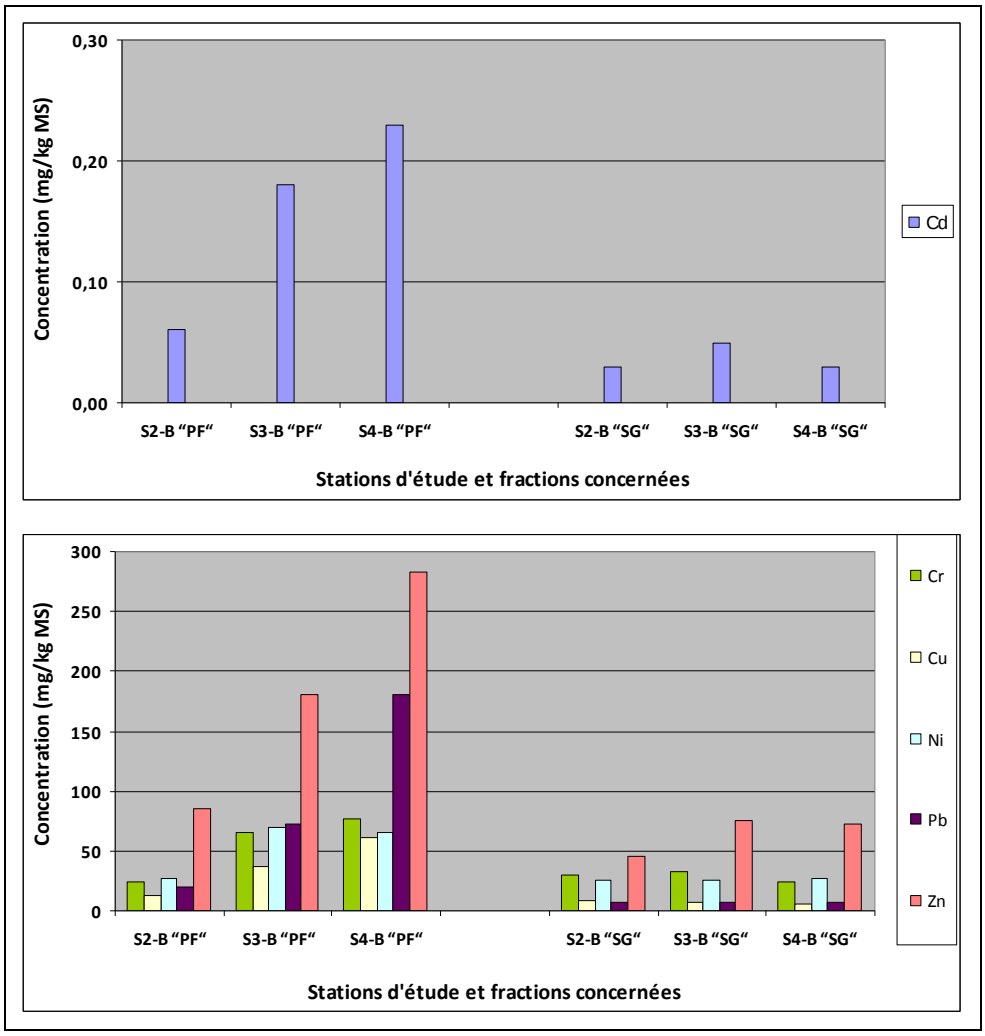


Figure 59 : **Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique pour les 3 stations d'étude**

Particules fines et sédiments grossiers des échantillons de la zone hyporhéique (H)

Les concentrations en métaux dosés dans les particules fines (PF) et les sédiments grossiers (SG) des échantillons hyporhéiques des 3 stations d'étude sont représentées au moyen de la **Figure 60**.

La comparaison des concentrations dosées permet de faire ressortir le fait que :

- **pour les « particules fines (PF) »** : le Cd n'a été détecté que dans la fraction S3-H « PF » et à une concentration relativement importante (0,45 mg/kg MS). Pour le Zn, les concentrations diminuent graduellement, en passant de 129,40 mg/kg MS pour S2-H « PF » à 35,10 mg/kg MS pour S4-H « PF ». Pour les 4 autres métaux (Cr, Cu, Ni, Pb) les concentrations dosées pour chacun d'eux sont relativement faibles (< 10 mg/kg MS) et pratiquement du même ordre de grandeur, métal par métal, pour les 3 stations ;

- **pour les « sédiments grossiers (SG) »** : les concentrations en Cd sont pratiquement du même ordre de grandeur pour les 3 stations mais avec une concentration légèrement supérieure

pour S3-H « SG » par rapport à S2-H « SG » ou S4-H « SG ». Pour le Cr, Cu, le Ni, le Pb et le Zn, les concentrations dosées dans la fraction S3-H « SG » sont toujours supérieures à celles dosées pour S2-H « SG » et S4-H « SG ». Finalement, S4-H « SG » semble être la fraction pour laquelle les concentrations dosées sont les plus faibles par rapports au 2 autres fractions (S2-H « SG » et S3-H « SG »).

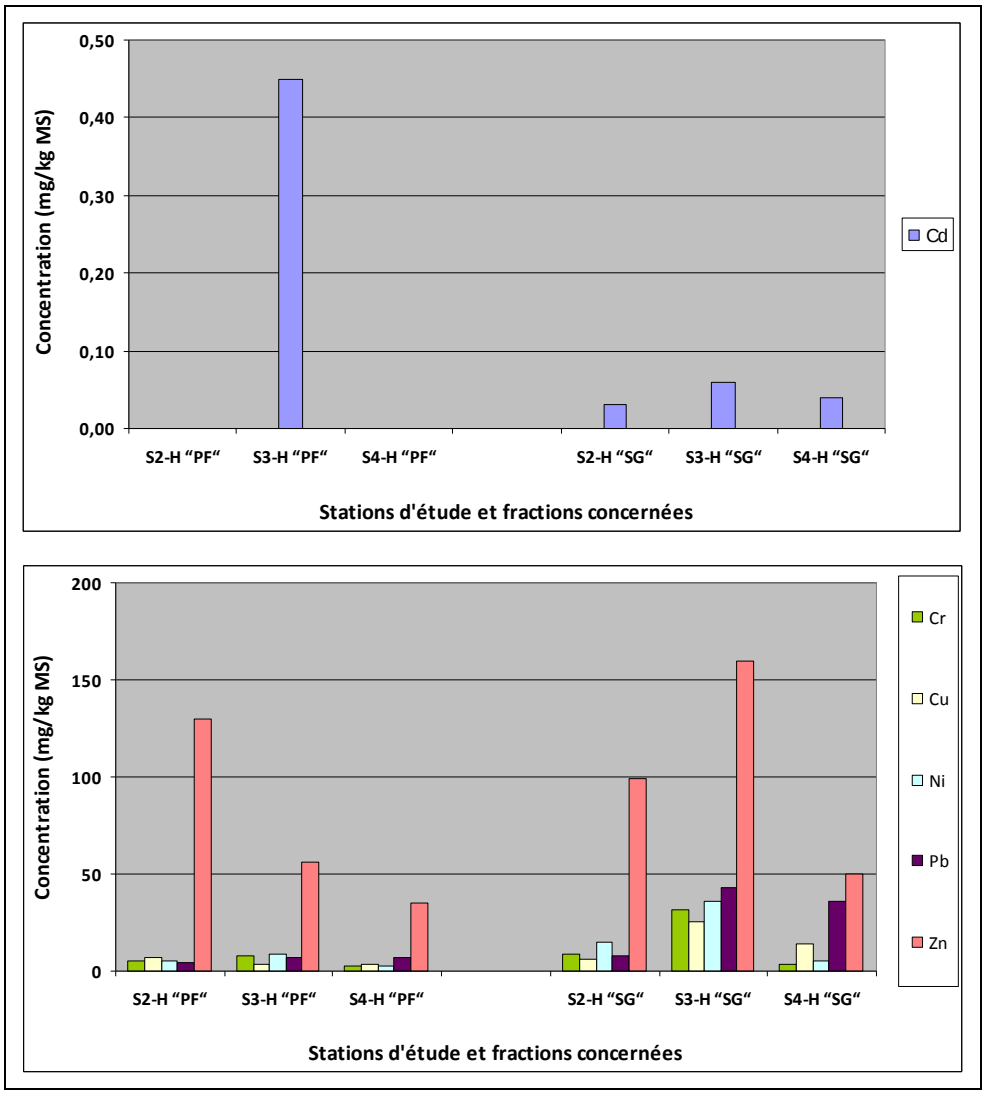


Figure 60 : **Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons de la zone benthique pour les 3 stations d'étude**

Point particulier : « aval-seuil » de la zone hyporhéique de la station S4 (S4-H3)

Filtrats à 0,45 µm du surnageant de l'échantillon S4-H3

Les résultats des concentrations en métaux dissous dosés dans le surnageant de l'échantillon S4-H3 sont présentés dans la **Figure 61**. On constate, à partir de ce graphique, que le Cd et le Pb dissous n'ont pas été retrouvés à une concentration détectable. Pour le Ni, sa concentration est

pratiquement nulle (0,7 µg/L). Le Zn est le métal dosé à la concentration la plus importante (130 µg/L) dans le filtrat à 0,45 µm du surnageant de l'échantillon S4-H3.

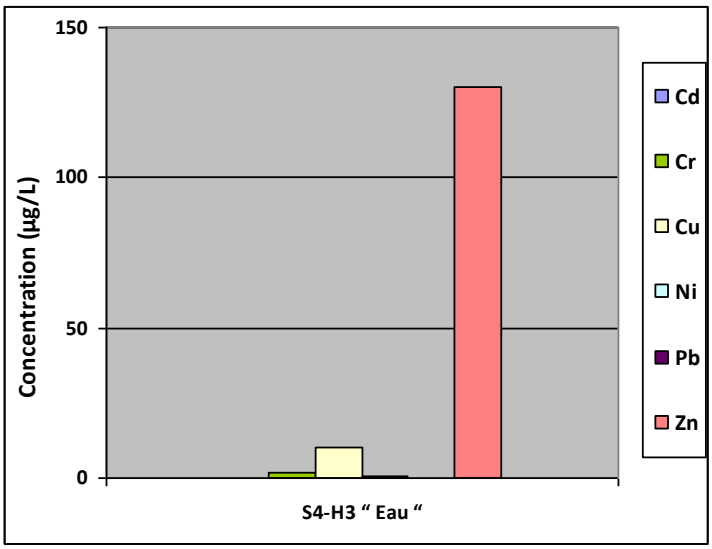


Figure 61 : **Concentrations en métaux dissous dosés dans le surnageant de l'échantillon S4-H3**

Particules fines et sédiments grossiers de l'échantillon S4-H3

Les concentrations en métaux dosés dans les particules fines (PF) et les sédiments grossiers (SG) de l'échantillon hyporhéique S4-H3 de la station S4 sont représentées au moyen de la **Figure 62**. A l'exception du Cd, cette figure permet de constater que les concentrations dosées dans la fraction « particules fines (PF) » pour les 5 autres métaux (Cr, Cu, Ni, Pb et Zn) sont toujours supérieures à celles dosées dans la fraction « sédiments grossiers » de ce même échantillon.

La comparaison des concentrations dosées permet également de faire ressortir le fait que :

- **pour les « particules fines (PF) »** : le Cd n'a pas été détecté dans la fraction S4-H3 « PF ». Pour le Pb et le Zn, les concentrations dosées sont pratiquement du même ordre de grandeur. Ils constituent les métaux qui présentent les concentrations les plus importantes dans la fraction « PF » de l'échantillon S4-H3 (plus de 180 mg/kg MS). Le Cr et le Ni sont également doées à des concentrations pratiquement équivalentes et présentent les concentrations les plus faibles (moins de 25 mg/kg MS). En ce qui concerne le Cu, sa concentration se détache de ces 2 paires de métaux ayant des concentrations proches (Pb proche de Zn et Ni proche de Cr), avec une concentration de 71 mg/kg MS ;

- **pour les « sédiments grossiers (SG) »** : le Cd a été détecté a une concentration de 0,05 mg/kg MS. Tout comme cela a été observé pour la fraction « PF » de l'échantillon S4-H3, le Pb et le Zn dosés dans la fraction « SG » de ce même échantillon présentent des concentrations qui sont pratiquement du même ordre de grandeur. Ils constituent également les métaux qui présentent les concentrations les plus importantes dans la fraction « SG » de l'échantillon S4-H3 (plus de 50 mg/kg MS). Le Cr et le Ni sont également dosés à des

concentrations pratiquement équivalentes et plutôt faibles (moins de 6 mg/kg MS). En ce qui concerne le Cu, sa concentration se détache également de ces 2 paires de métaux ayant des concentrations proches (Pb proche de Zn et Cr proche de Ni), avec une concentration de 19,94 mg/kg MS, tout comme cela a été observé pour la fraction « PF » de l'échantillon S4-H3.

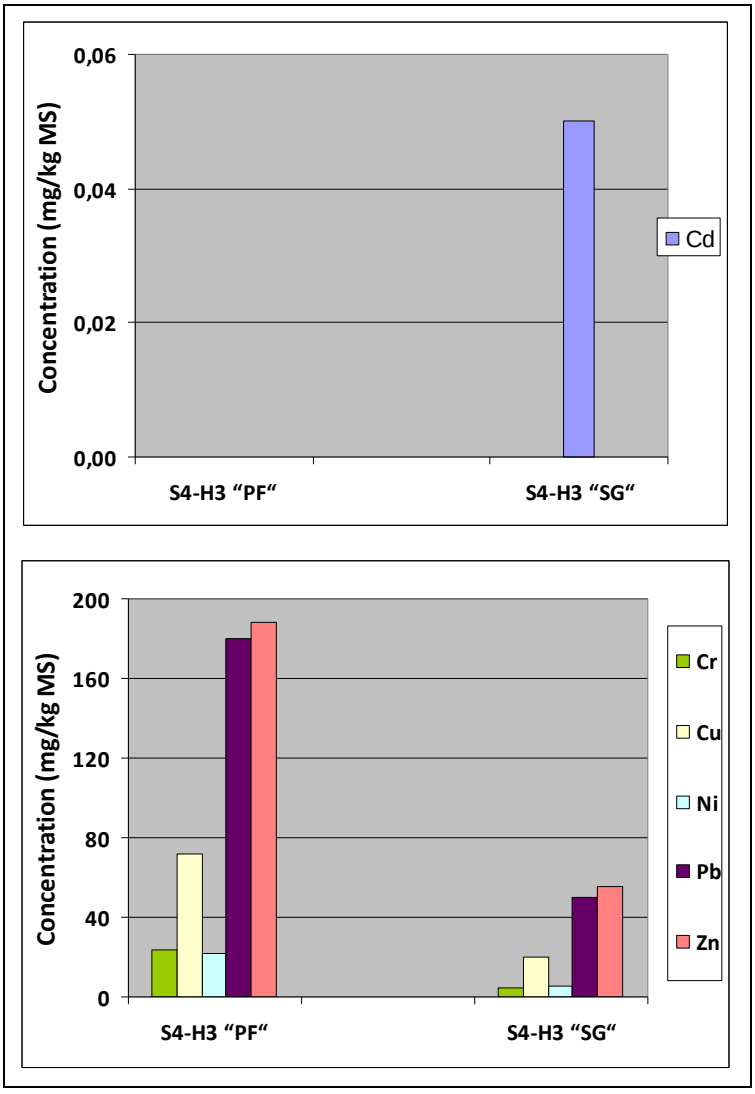


Figure 62 : **Concentrations en métaux dosés dans les particules fines et les sédiments grossiers de l'échantillon S4-H3**

VI.2.2. Synthèse des caractéristiques chimique des échantillons des 3 stations d'étude

Suite à cette phase de caractérisation chimique des échantillons des 3 stations d'étude, il ressort :

- ***<u>en ce qui concerne les paramètres globaux</u> :***
  - ***les 3 prélèvements réalisés dans la zone hyporhéique de la station S4 présentent les plus fortes valeurs de conductivité, et, à certains endroits, le plus faibles teneurs en O_2 dissous ;***

- ***les échantillons d'Eau de Surface (ES) des 3 stations contiennent de très faibles concentrations en MES et des concentrations relativement faible d'ammonium ;***
- ***Les échantillons des zones benthique et hyporhéique présentent de faible concentration en matière organique essentiellement oxydables ;***

- ***<u>en ce qui concerne les métaux</u> :***
  - ***en termes de métaux dissous :***
    - ***le Cu suivi du Cr et du Ni sont les principaux métaux dissous présents dans les échantillons d'Eau de Surface (ES) des 3 stations d'étude ;***
    - ***pour la zone benthique, le Zn dissous est le métal le plus présent mais rencontré seulement au niveau des stations S3 et S4 ;***
    - ***Pour la zone hyporhéique, le Zn dissous est également le métal le plus présent mais rencontré uniquement au niveau de la station S2 ;***
  - ***en termes de métaux adsorbés sur les particules, le Zn ressort comme le métal le plus présent aussi bien pour les échantillons d'Eau de Surface, les échantillons de la zone benthique que ceux de la zone hyporhéique. Le Cd est pratiquement présent dans les échantillons provenant des 3 horizons des 3 stations d'étude, à quelques exceptions près. Des pics de concentrations en Pb sont également observés au niveau de certaines stations, essentiellement en ce qui concerne les zones benthique et hyporhéique.***

VI.2.3. Granulométrie des échantillons des zones benthique et hyporhéique prélevés au niveau des 3 stations d'étude de la rivière Chaudanne

VI.2.31. Analyses granulométriques par tamisage

Le Tableau 82 présente la répartition granulométrique (en % volumique) obtenue à l'issue de l'analyse granulométrique, des échantillons bruts des zones benthique et hyporhéique, réalisée sur la base de la succession de tamis retenue. Les résultats de cette première analyse granulométrique permettent d'apprécier le pourcentage de graviers (2 mm < D < 64 mm selon Wentworth [1922]) contenu dans les échantillons analysés.

La seconde fraction dénommée « Autres » est essentiellement constituée d'eau et de sédiments dont les grains sont inférieurs à 2 mm. Elle a été analysée par diffraction laser.

Tableau 82 : Pourcentage de graviers contenu dans les échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne

Taille et dénomination					
		2 mm < D < 64 mm : graviers			
Zone	**Echantillon**	**Graviers (%)**			**Autres (%)**
		D ≥ 8 mm	**D ≥ 4 mm**	**D ≥ 2 mm**	**D < 2 mm**
Benthique	**S2-B**	3,7	3,6	33,2	**59,5**
	S3-B	0	0,3	12,6	**87,1**
	S4-B	6,7	6,8	12,1	**74,4**
Hyporhéique	**S2-H**	0	0	0	**100**
	S3-H	0	0	0,1	**99,9**
	S4-H	0	0,1	0,6	**99,3**
	S4-H3	0	0,1	0,5	**99,4**

L'analyse de ce tableau permet de constater que :

- **pour la zone benthique**, l'échantillon brut S2-B contenait le pourcentage de graviers le plus important (40%) suivi par l'échantillon S4-B (26%), ce qui révèle une constitution plus grossière de ces 2 échantillons par rapport à l'échantillon S3-B (13%).

- **pour la zone hyporhéique**, les échantillons bruts S4-H et S4-H3 contenaient près de 1% de graviers alors que pour les échantillons S2-H et S3-H, la proportion de graviers est pratiquement nulle dans ces 2 derniers échantillons.

VI.2.32. Analyses granulométriques par diffraction laser

La **Figure 63** présente les courbes granulométriques obtenues suite à l'analyse par diffraction laser réalisée sur 3 fractions des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude : « Eau et particules fines (EPF) », « Sédiments grossiers (SG) » et « l'échantillon global (EG) » qui est l'échantillon prélevé sans avoir opéré l'opération de séparation des 2 précédentes fractions. Cette même analyse granulométrique a été réalisée sur l'échantillon « aval-seuil » de la station 4 (S4-H3) et pour les 3 fractions de cet échantillon (EPF, SG et EG).

L'analyse de ces graphiques révèle que, globalement et indépendamment des stations :

- **pour la zone benthique**, les courbes granulométriques ont : (i) une allure à tendance bi-modale pour la fraction « EPF » (ligne 1) ; (ii) une allure à tendance uni-modale pour la fraction « SG » (ligne 2) ; (iii) une allure à tendance uni-modale pour la fraction « EG » (ligne 3) ;

- **pour la zone hyporhéique**, les courbes granulométriques ont : (i) une allure à tendance bi-modale pour la fraction « EPF » (ligne 4) ; (ii) une allure à tendance uni-modale pour la fraction « SG » (ligne 5) ; (iii) une allure à tendance uni-modale pour la fraction « EG » pour S3-H (cellule 6e), et une allure à tendance bi-modale pour S2-H (cellule 6d), S4-H (cellule 6f) et S4-H3 (cellule 6g) .

Ces tendances générales sont conservées aussi bien pour les mesures réalisées sans ultrasons que pour les mesures réalisées après l'application des ultrasons (pendant 1 mn).

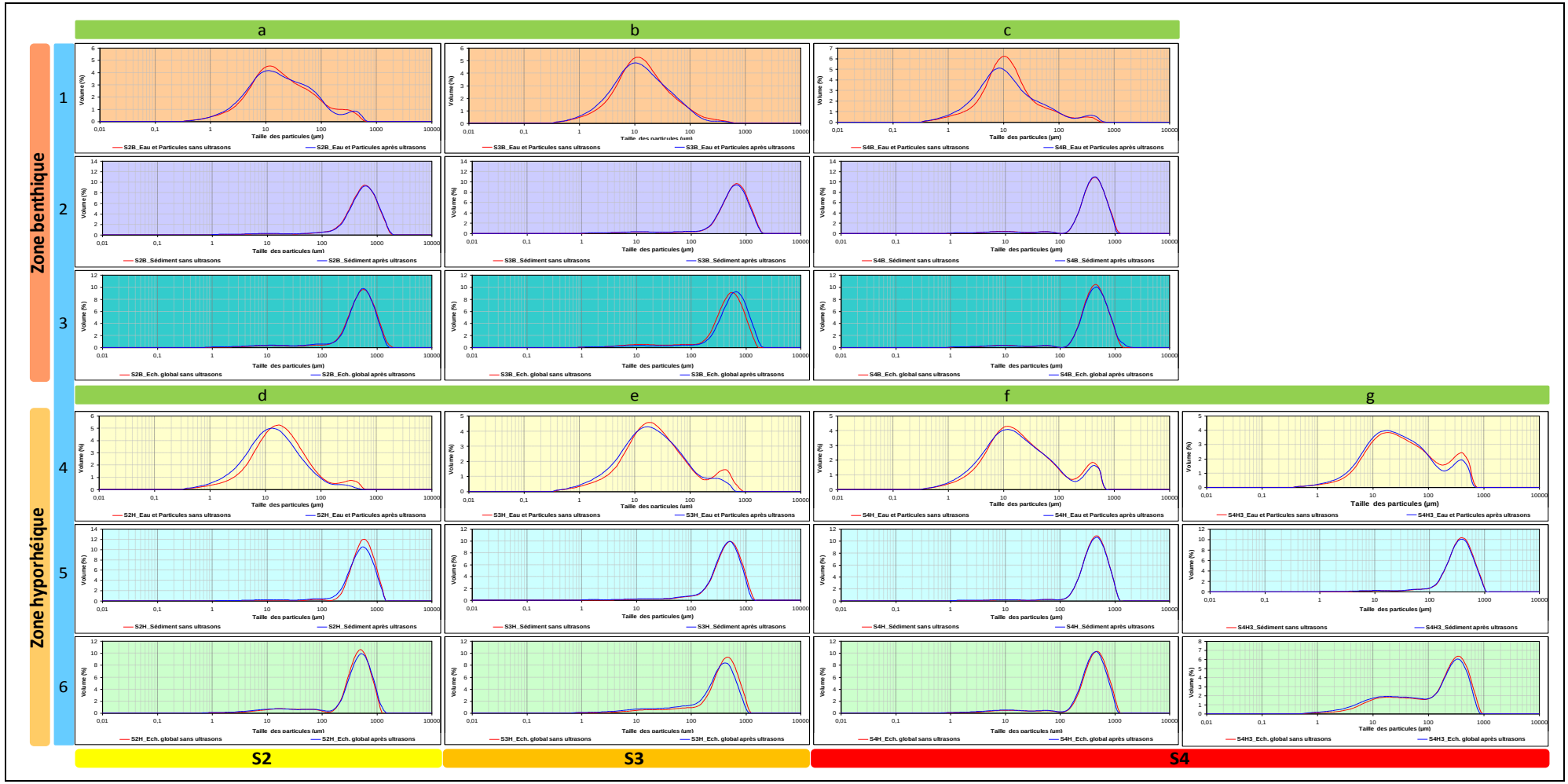


Figure 63 : **Courbes granulométriques des échantillons des stations de prélèvement au niveau de la rivière Chaudanne**

En se basant sur la classification proposée par Wentworth [1922], la répartition granulométrique (en % volumique) des 3 fractions analysées pour chaque échantillon (sans l'application des ultrasons) se présente de la manière suivante (Tableau 83) :

Tableau 83 : Classes granulométriques constituants les 3 fractions des échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne

	Taille et dénomination		
63 µm < D < 2 mm : sables	4 µm < D < 63 µm : silts	D < 4 µm : argiles	

Zone	Réf figure (No. cellule)	Echantillon	Sable (%)	Silt (%)	Argile (%)
Benthique	1a	**S2-B « EPF »**	18,76	70,19	11,05
	1b	**S3-B « EPF »**	10,22	75,86	13,93
	1c	**S4-B « EPF »**	9,17	76,55	14,28
	2a	**S2-B « SG »**	95,25	4,00	0,75
	2b	**S3-B « SG »**	94,54	4,67	0,79
	2c	**S4-B « SG »**	93,17	5,76	1,07
	3a	**S2-B « EG »**	93,91	5,22	0,88
	3b	**S3-B « EG »**	90,10	8,48	1,42
	3c	**S4-B « EG »**	93,54	5,39	1,07
Hyporhéique	4d	**S2-H « EPF »**	12,58	77,90	9,52
	4e	**S3-H « EPF »**	22,20	69,04	8,76
	4f	**S4-H « EPF »**	21,16	67,29	11,55
	4g	**S4-H3 « EPF »**	33,59	61,01	5,39
	5d	**S2-H « SG »**	99,63	0,37	0,00
	5e	**S3-H « SG »**	96,36	3,63	0,01
	5f	**S4-H « SG »**	96,60	2,77	0,64
	5g	**S4-H3 « SG »**	96,00	3,97	0,03
	6d	**S2-H « EG »**	87,37	11,48	1,16
	6e	**S3-H « EG »**	88,94	10,00	1,07
	6f	**S4-H « EG »**	90,90	7,63	1,46
	6g	**S4-H3 « EG »**	66,46	30,60	2,94

Dans le cadre de cette étude, la dimension maximale des grains de sable analysées (1,6 mm) est inférieure à la limite proposée par Wentworth [1922], pour une raison purement technique décrite au paragraphe III.4.2 de la partie « Matériels et Méthodes ».

L'analyse du Tableau 83 permet de faire les principales constatations suivantes :

- **sur la technique de séparation des phases « Eau et particules fines (EPF) » et « Sédiments grossiers (SG) utilisée** : globalement, on observe que la répartition des dimensions des grains de chacune des 2 fractions constituées suite à la décantation d'1 mn est relativement homogène entre stations ;

- **sur la nature composition globale des échantillons des 3 stations** : En ne considérant que les « échantillons globaux des stations, on observe que pour la zone benthique (figures 3a, 3b et 3c), les fractions S2-B « EG » et S4-B « EG » ont des concentrations en sable, silt et argile qui sont relativement proches. Par contre, en ce qui concerne la zone hyporhéique (figures 6d, 6e et 6f), ceux sont les fractions S2-H « EG » et S3-H « EG » qui ont des concentrations en sable, silt et argile relativement proches. La fraction S4-H3 « EG » se détache nettement de la constitution de l'échantillon moyen S4-H avec un fort pourcentage de silt (> 30%).

VI.3. CARACTERISTIQUES ECOTOXICOLOGIQUES DES ECHANTILLONS DES 3 STATIONS D'ETUDE AU NIVEAU DE LA RIVIERE CHAUDANNE

VI.3.1. Résultats des essais *D. magna* 24h et 48h, *V. fischeri* 30mn et *B. calyciflorus* 48h, pour les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique

La **Figure 64** présente les résultats des essais de toxicité aiguë (Dm 24h, Dm 48h, Vf 30mn) et de toxicité chronique (Bc 48h) mis en œuvre sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne. Les résultats sont présentés au moyen d'histogrammes et correspondent à la valeur de CE_{20} (en % d'échantillon) obtenu pour chacun des essais mis en oeuvre. Les valeurs numériques des critères d'effet observés figurent en annexe de ce document (voir Annexe K).

L'appréciation des résultats (**Figure 64**), pour les stations d'étude est présentée dans l'ordre suivant : 1) échantillons d'Eau de Surface (ES) ; 2) la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone benthique (B) ; 3) la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone hyporhéique. Pour terminer cette partie, une appréciation de la réponse globale de la batterie de bioessais mono-spécifiques utilisée sera également faite.

Figure 64 : **Ecotoxicité des échantillons d'eau de surface (ES) et de la fraction « Eau et particules fines » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude**

VI.3.11. Echantillon d'Eau de Surface (ES)

Les 4 bioessais mis en œuvre pour caractériser les échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude permettent de conclure à un caractère non-toxique de ces échantillons pour les organismes tests de ces bioessais. En effet, les valeurs de CE_{20} pour chacun de ces bioessasis (Dm 24h , Dm 48h, Vf 30mn et Bc 48h) sont toujours supérieures à la concentration maximale testée pour de ces échantillons.

Les échantillons S2-ES, S3-ES et S4-ES ne sont pas toxiques pour les organismes tests D. magna, V. fischeri et B. calyciflorus, sur la base de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre,

et en se référant à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago et al. [2002].

VI.3.12. Fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone benthique (B)

Trois bioessais (Dm 24h, Dm 48h, Bc 48h) ont été mis en œuvre pour caractériser la fraction « Eau et particules fines » des échantillons de la zone benthique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne. Les résultats des essais Dm 24h et Dm 48h permettent de conclure à un caratère non-toxique des 3 échantillons puisque les valeurs de CE_{20} pour ces 2 bioessasis sont toujours supérieures à la concentration maximale testée pour ces échantillons.

En ce qui concerne l'essai Bc 48h, il met en évidence une toxicité pour la fraction « Eau et particules fines » de l'échantillon de la station 4 (S4-B « EPF ») alors que ce bioessai ne révèle pas d'effet toxique en ce qui concerne S2-B « EPF » et S3-B « EPF ».

Si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago et al. [2002], il est permis de dire que S4-B « EPF » est toxique vis-à-vis de l'organisme test B. calyciflorus, et que les trois échantillons (S2-B « EPF », S3-B « EPF », S4-B « EPF ») sont non toxiques vis-à-vis D. magna, sur la base de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre.

VI.3.13. Fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone hyporhéique (H)

VI.3.131. Fraction « EPF » pour les 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne

La fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons de la zone hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne a été caractérisée au moyen de 4 bioessais (Dm 24h, Dm 48h, Vf 30mn et Bc 48h). Les essais Dm 24h et Dm 48h, sur la base des résultats obtenus, permettent de conclure à un caratère non-toxique des 3 échantillons puisque les valeurs de CE_{20} pour ces 2 bioessais sont toujours supérieures à la concentration maximale testée pour ces échantillons.

En ce qui concerne les essais Vf 30mn et Bc 48h, ils mettent en évidence une toxicité pour la fraction « Eau et particules fines » de l'échantillon de la station 4 (S4-H « EPF »). Pour la station 3, c'est l'essai Bc 48h qui met en évidence une toxicité pour la fraction S3-H « EPF » ; toxicité qui est d'ailleurs plus importante que celle mis en évidence pour S4-H « EPF », sur la base de ce même bioessai (CE_{20} pour S3-H « EPF » < CE_{20} pour S4-H « EPF »). Ces 2 bioessais (Vf 30mn et Bc 48h) ne révèlent pas d'effet toxique en ce qui concerne S2-H « EPF ».

Sur la base de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre et en se référant à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago et al. [2002], il est permis de dire que S3-H « EPF » est toxique vis-à-vis de l'organisme test B. calyciflorus, alors que S4-H « EPF » peut être qualifié de peu toxique vis-à-vis des organismes tests V. fischeri et B. calyciflorus. Par rapport à D. magna, les trois échantillons (S2-H « EPF », S3-H « EPF », S4-H « EPF ») peuvent être qualifiés de non toxiques.

VI.3.132. Fraction « EPF » du point S4-H3 au niveau de la station 4

La fraction « Eau et particules fines (EPF) » de l'échantillon de la zone hyporhéique prélevé an aval du seuil de la station 4 a été caractérisée au moyen des mêmes bioessais utilisés pour la fraction « EPF » des échantillons hyporhéiques des 3 stations d'étude (Dm 24h, Dm 48h, Vf 30mn et Bc 48h). Tout comme pour l'échantillon S4-H « EPF », les essais Dm 24h et Dm 48h permettent de conclure, sur la base des résultats obtenus, à un caratère non-toxique de S4-H3 « EPF » (les CE_{20} sont toujours supérieures à la concentration maximale testée pour cet échantillon).

Les essais Vf 30mn et Bc 48h se sont également révélés comme étant les plus sensibles de la batterie de bioessais mise en œuvre pour caractériser S4-H3 « EPF ». Ces 2 essais mettent en évidence une toxicité pour la fraction « Eau et particules fines » de l'échantillon S4-H3 « EPF ». Cette toxicité est plus importante que celle mise en évidence pour l'échantillon moyen S4-H « EPF », sur la base de ces mêmes bioessais (CE_{20} pour S4-H3 « EPF » < CE_{20} pour S4-H « EPF »).

Sur la base de la batterie de bioessais mono-spécifiques mise en œuvre et en se référant à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago et al. [2002], il est permis de qualifier S4-H3 « EPF » d'échantillon toxique vis-à-vis des organismes tests V. fischeri et B. calyciflorus. S4-H3 « EPF » est non toxique vis-à-vis de D. magna sur la base de cette même proposition de classification.

VI.3.14. Appréciation de la réponse globale de la batterie de bioessais mono-spécifiques utilisée

Les résultats présentés au moyen de la **Figure 64** ainsi que les interprétations qui en découlent permettent de conclure, globalement, à une ***nature toxique de la fraction « Eau et particules fines (EPF) des échantillons de la station S3 pour le compartiment hyporhéique et de la station S4 pour les compartiments benthique et hyporhéique, sur la base des bioessais mis en œuvre***.

Cette batterie de bioessais qui peut être qualifiée de « minimale » permet de cerner de manière relativement satisfaisante la problématique de la fraction « EPF » des échantillons des compartiments benthique et hyporhéique. Cependant, on constate que ces mêmes organismes ne se sont pas révélés sensibles aux échantillons d'Eau de Surface (ES) dans les limites de la concentration maximale testée pour ces échantillons.

L'une des hypothèses qui peut être émise sur la base de cette constatation est que les polluants disponibles soent majoritairement adsorbés aux particules. En effet, indépendamment des horizons étudiés et sur la base du protocole qui a été utilisé pour récupérer la fraction EPF des échantillons des zones benthique et hyporhéique, il est certain que les échantillons d'Eau de Surface (ES) contenaient très peu de particules (concentration maximale en MES < 17 mg/L) comparativement aux fractions EPF. D'ailleurs, c'est la principale raison pour laquelle l'analyse granulométrique par diffraction laser n'a pas pu être réalisée pour les échantillons d'Eau de Surface (ES).

VI.3.2. Résultats de l'essai *V. fischeri* 20mn pour la fraction « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique

Les résultats de l'essai *V. fischeri* 20 mn mis en œuvre sur la fraction « Sédiments grossiers (SG) » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne sont présentés au moyen de la **Figure 65**.

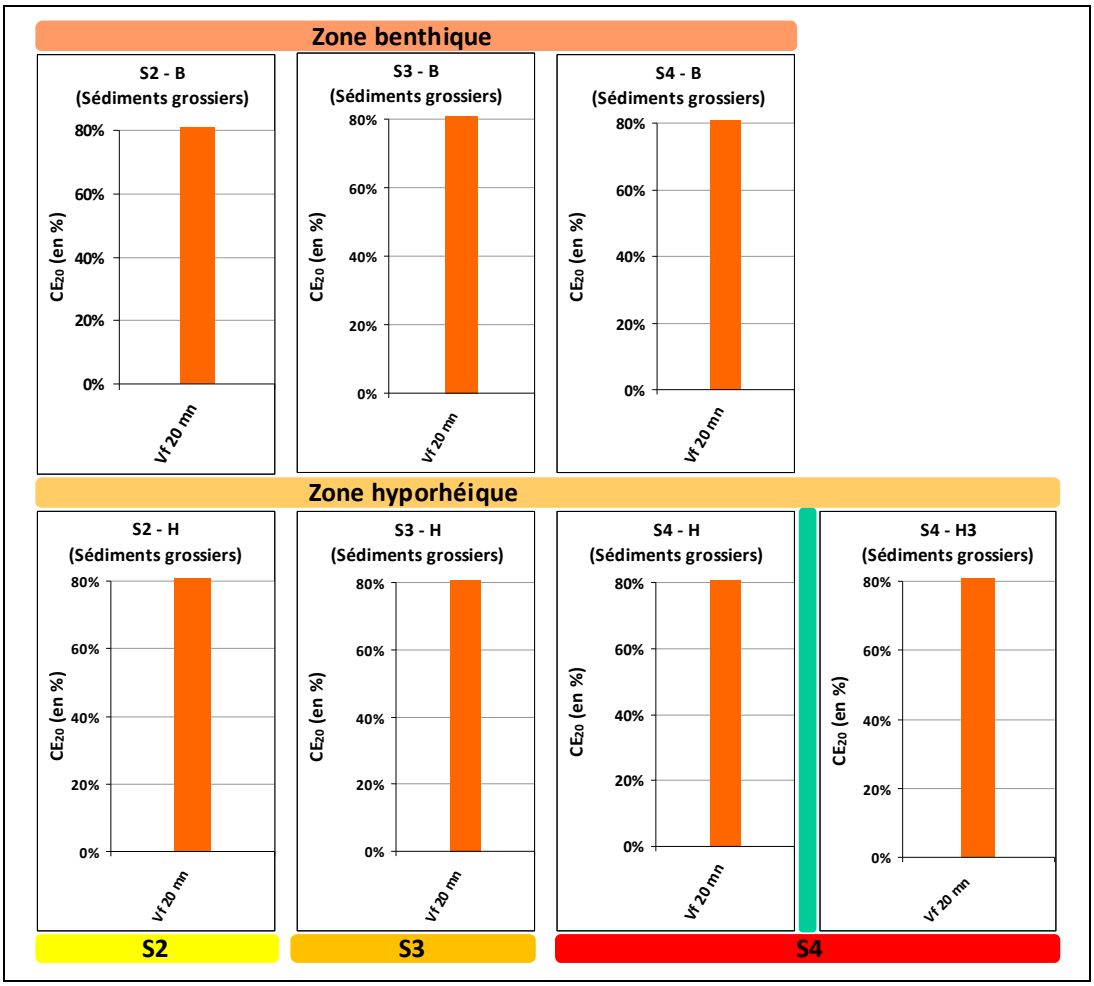


Figure 65 : **Ecotoxicité de la fraction « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude vis-à-vis de *V. fischeri***

Cette figure permet de conclure à un caractère non toxique de la fraction « SG » de chacun des échantillons testés aussi bien pour la zone benthique que pour la zone hyporhéique. En effet, les valeurs de CE_{20} pour chacun des échantillons testés sont toujours supérieures à la concentration maximale testée.

Sur la base de l'essai V. fischeri 20 mn, il est permis de qualifier de non toxique la fraction « Sédiments grossiers » des échantillons de la zone benthique (S2-B « SG », S3-B « SG », S4-B « SG ») et des échantillons de la zone hyporhéique (S2-H «SG », S3-H « SG », S4-H «SG », S4-H3 « SG ») vis-à-vis de V. fischeri.

VI.3.3. Résultats de l'essai *H. incongruens* 6j pour les échantillons d'Eau de Surface (ES) et les fractions « Eau et particules fines » et « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique

VI.3.31. Essai : *H. incongruens* 6j sur les échantillons d'Eau de Surface (ES)

Les résultats de l'essai de *H. incongruens* (ostracode) mis en œuvre sur les échantillons bruts d'Eau de surface (ES) des 3 stations d'étude sont synthétisés dans le Tableau 84 ci-dessous.

Tableau 84 : Ecotoxicité des échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne vis-à-vis des ostracodes

Zone	Echantillon	Mortalité (%) *par rapport à la population initiale*		Croissance des organismes (%) *par rapport au témoin*	
		Min	Max	Min	Max
Eau de surface	Concentrations testées	12,5%	50%	12,5%	50%
	S2-ES	40	27	+65	+62
	S3-ES	10	13	+52	+54
	S4-ES	7	10	+45	+44

L'analyse de ce tableau permet de faire les constatations suivantes :

- **sur la toxicité des échantillons en fonction des stations d'étude** : sur la base de la mortalité, l'échantillon S4-ES est le moins toxique des 3 échantillons testés. L'échantillon S2-ES est celui pour lequel on a observé le plus important pourcentage de mortalité. Par contre, sur la base de la croissance des organismes, les 3 échantillons contenaient des organismes de plus grande taille que dans le témoin ; ce qui peut être lié à la quantité de matière organique présente dans les échantillons et absente dans le témoin. Cependant, l'échantillon S4-ES est celui dans lequel les organismes vivants à la fin de la période d'essai étaient de plus petite taille, comparé aux 2 autres échantillons. En effet, la taille des organismes n'a augmenté de 45% environ, par rapport au témoin, pour l'échantillon S4-ES alors que pour les 2 autres échantillons (S2-ES et S3-ES) ce pourcentage est supérieur à 50%. Ce qui permet de conclure à un effet « station » sur la croissance des organismes. Les 2 critères d'effet suivis mettent en évidence un impact de ces échantillons sur l'organisme test mais ils révèlent des effets inversés d'un critère d'effet à l'autre pour un même échantillon. A titre d'exemple, l'échantillon S2-ES est celui dans lequel on retrouve le moins de survivants et pourtant les organismes survivants ont une croissance élevée ;

- **par rapport à la réalisation de l'essai sur la base d'une gamme de dilutions** : pour les 2 critères d'effet suivis, la mortalité et la croissance des organismes, et sur la base de la gamme de dilutions testée, les résultats ne mettent pas en évidence des effets significativement différents en fonction des concentration testées, à l'exception du critère d'effet « mortalité » pour l'échantillon S2-ES. En effet, cet échantillon constitue la seule particularité de cette

constation puisqu'on aboutit à des effets inversement liés à la dilution de l'échantillon : plus l'échantillon est dilué plus le pourcentage de mortalité est important. Les causes de cette mortalité importante (> au seuil de 20% de mortalité dans le témoin) ne sont pas clairement identifiées.

VI.3.32. Résultats de l'essai *H. incongruens* 6j et du suivi de l'O_2 dissous et de température, pour les fractions « Eau et particules fines » et « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique

Le Tableau 85 présente les résultats de l'essai ostracode mis en œuvre sur les fractions « Eau et particules fines » et « Sédiments grossiers » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne.

L'analyse de ce tableau permet de faire les constatations suivantes :

- **pour la zone benthique** :
  - ***fraction « Eau et particules fines (EPF) »*** : sur la base de la mortalité, on peut classer les échantillons dans l'ordre suivant : mortalité S2-B « EPF » > mortalité S3-B « EPF » > mortalité S4-B « EPF ». Cependant, le pourcentage de mortalité observé pour les échantillons, considéré individuellement, est inférieur au seuil admis pour le témoin. Pour la croissance des organismes, les 3 échantillons contenaient des organismes de plus grande taille que ceux dans le témoin, à la fin de la période d'essai. Néanmoins, l'échantillon S4-B « EPF » se distingue des 2 autres, car, à la fin de la période, les organismes vivants dans cet échantillon étaient de plus petite taille que ceux des échantillons S2-B « EPF » et S3-B « EPF ». Il est permis de classer ces 3 échantillons dans l'ordre suivant : taille organismes S2-B « EPF » ≈ taille organismes S3-B « EPF » > taille organismes S4-B « EPF » ;
  - ***fraction « Sédiments grossiers (SG) »*** :
    - sur la base de la mortalité : la mortalité observée est globalement peu significative par rapport au seuil admis pour le témoin (20%). Toutefois, la mortalité est plus importante pour l'échantillon S3-B « SG » que pour les 2 autres (S2-B « SG » et S4-B « SG »). On observe également que la mortalité est légèrement différente pour un même échantillon (S3-B « SG » ou S4-B « SG ») en fonction du ratio testé. Cette dernière constatation ne s'applique pas à S2-B « SG » car aucun effet « ratio » n'a été mis en évidence pour cet échantillon, en ce qui concerne la mortalité des organismes ;
    - sur la base de la croissance des organismes : globalement, les organismes sont de taille supérieure dans les échantillons testés par rapport au témoin. Cependant, il est quand même permis de conclure à un effet « station » entre les 3 échantillons, sur la base de la taille des organismes ; ce qui permet de les classer dans l'ordre suivant : taille organismes S3-B « SG » > taille organismes S2-B « SG » > taille organismes S4-B « SG ». Un effet « ratio » a également été mis en évidence pour les 3 échantillons car on observe, globalement, que : taille pour ratio minimum testé > taille pour ratio maximum testé ;

- O_2 dissous et température des milieux d'essai : les concentrations en O_2 dissous étaient légèrement différentes en début d'essai, pour les ratios mininimum et maximum testés, pour un même échantillon. En fin d'essai, on a observé une baisse des concentrations en O_2 dissous relativement plus importante pour le ratio minimum testé que pour le ratio maximum testé. Cependant, cette fluctuation de concentrations en O_2 dissous n'a pas atteint l'anoxie (milieu d'essai pauvre en O_2 dissous) durant la période d'essai (6j). Pour la température des milieux d'essai, très peu de fluctuation a été observée aussi bien sur la base d'une comparaison entre période d'essai (début et fin de la période) que sur la base de la gamme de dilutions testée (ratio minimum et ratio maximum). Les températures mesurées peuvent être qualifiées de relativement stables.

- **pour la zone hyporhéique** :
  - ***fraction «Eau et particules fines (EPF) »*** :
    - sur la base de la mortalité : la mortalité observée est globalement peu significative par rapport au seuil admis pour le témoin (20%). Toutefois, la mortalité peut être qualifiée de plus importante pour l'échantillon S2-H « EPF » que pour les 2 autres (S3-H « EPF » et S4-H « EPF »), et même par rapport à l'échantillon S4-H3 « EPF ». On observe également que la mortalité est légèrement différente pour un même échantillon (S2-H « EPF », S3-H « EPF » ou S4-H « EPF ») en fonction du ratio testé. Cette dernière constatation ne s'applique pas à S4-H3 « EPF » car aucun effet « ratio » n'a été mis en évidence pour cet échantillon, en ce qui concerne la mortalité des organismes ;
    - sur la base de la croissance des organismes : globalement, les organismes sont de taille supérieure dans les échantillons testés par rapport au témoin, à l'exception du ratio max testé pour S4-H « EPF » où on observe une inhibition de la croissance des organismes par rapport au témoin. Il y a pas un petit effet « station » qui peut être mis en évidence ; cet effet « station » n'est pas très significatif entre S2-H « EPF » et S3-H « EPF », mais il y a un écart qui est légèrement plus important entre S2-H « EPF » et S4-H « EPF » et même par rapport à S4-H3 « EPF ». Un effet dit de « ratio » peut être clairement mis en évidence pour les échantillons S4-H « EPF » et S4-H3 « EPF » mais les conclusions ne sont pas aussi nettes en ce qui concerne S3-H « EPF » et en encore moins pour S2-H « EPF » ;
    - O_2 dissous et température des milieux d'essai : les concentrations en O_2 dissous étaient du même ordre de grandeur en début et en fin d'essai, pour les ratios minimum et maximum testés, pour un même échantillon. En fin d'essai on a observé une baisse des concentrations en O_2 dissous relativement significative pour les ratios testés. Cependant, cette fluctuation de concentrations en O_2 dissous n'a pas atteint l'anoxie durant la période d'essai (6j). Pour la température des milieux d'essai, elle peut être qualifiée de stable, aussi bien sur la base d'une comparaison entre période d'essai (début et fin de la période) que sur la base de la gamme de dilutions testée (ratio minimum et ratio maximum) ;
  - ***fraction «Sédiments grossiers (SG) »*** : sur la base de la mortalité, on peut classer les échantillons dans l'ordre suivant : mortalité S2-H « SG » > mortalité S3-H « SG » = mortalité

S4-H « SG ». La mortalité observée pour S2-H « SG » est équivalente à celle pour S4-H3 « SG ». Cependant, le pourcentage de mortalité observé pour chacun de ces échantillons est inférieur au seuil admis pour le témoin (20% de mortalité). Pour la croissance des organismes, les 3 échantillons contenaient, en fin d'essai, des organismes de plus grande taille que dans le témoin. Par contre, S4-H « SG » se détache des 2 autres car la taille des organismes vivants à la fin de la période étaient plus petite que celle de S2-H « SG » et de S3-H « SG ». En procédant à un classement, on aboutit à l'ordre suivant : taille organismes S3-H « SG » > taille organismes S2-H « SG » > taille organismes S4-H « SG ». En ce qui concerne les organismes de S4-H3 « SG », on a observé une inhibition de leur taille par rapport au témoin et par conséquent une inhibition plus importante encore par rapport à la taille des organismes des 3 autres échantillons.

Tableau 85 : Ecotoxicité et suivi de l'O_2 dissous et de la température des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude sur la rivière Chaudanne vis-à-vis des ostracodes

Zone	Echantillon	Mortalité (%) *par rapport à la population initiale*		Croissance des organismes (%) *par rapport au témoin*		O_2 dissous (mg/L)				Température (°C)			
						Début		Fin		Début		Fin	
	Ratios testés	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
		0,5 : 5,5	2 : 4	0,5 : 5,5	2 : 4	0,5 : 5,5	2 : 4	0,5 : 5,5	2 : 4	0,5 : 5,5	2 : 4	0,5 : 5,5	2 : 4
Benthique	S2-B « EPF »	-	13,3	-	+61	-	-	-	-	-	-	-	-
	S3-B « EPF »	-	6,7	-	+62	-	-	-	-	-	-	-	-
	S4-B « EPF »	-	0	-	+42	-	-	-	-	-	-	-	-
	S2-B « SG »	0	0	+42	+28	6,36	5,94	4,37	4,93	21,1	21,4	22,2	21,8
	S3-B « SG »	10	0	+63	+25	9,57	6,20	5,13	4,88	21,0	21,0	21,9	21,8
	S4-B « SG »	0	3,3	+27	+5	8,91	7,87	5,49	4,62	20,9	20,9	21,9	21,9
Hyporhéique	S2-H « EPF »	16	3,3	+37	+42	6,31	6,17	4,33	4,95	21,4	21,7	21,9	21,4
	S3-H « EPF »	3,3	0	+47	+44	6,47	6,37	5,30	4,74	21,3	21,3	21,3	21,4
	S4-H « EPF »	10	6,7	+47	-5	6,35	6,35	5,26	5,08	21,4	21,1	21,3	21,2
	S4-H3 « EPF »	3,3	3,3	+53	+19	6,70	6,53	5,46	5,03	21,2	21,0	21,2	21,4
	S2-H « SG »	-	3,3	-	+19	-	-	-	-	-	-	-	-
	S3-H « SG »	-	0	-	+43	-	-	-	-	-	-	-	-
	S4-H « SG »	-	0	-	+5	-	-	-	-	-	-	-	-
	S4-H3 « SG »	-	3,3	-	-11	-	-	-	-	-	-	-	-

VI.4. CARACTERISATION DU RISQUE POUR LES ORGANISMES DE LA RIVIERE CHAUDANNE SUR LA BASE DE L'APPROCHE *A POSTERIORI*

Pour parvenir à la caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base de l'approche *a posteriori*, il sera procédé à une comparaison des résultats obtenus suite à la caractérisation physico-chimique et à la caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés. Cette comparaison porte sur les caractéristiques des échantillons des stations S3 et S4 comparées à celles des échantillons de la station S2 (en amont du DO). Les principaux paramètres retenus sont ceux qui sont communs à la fois aux échantillons moyens des stations S3 et S4 et à l'échantillon de la station S2. A ce titre, les MES et le NH_4^+ (pour les échantillons d'eau de surface uniquement), la DCO, les métaux, sont retenus pour la physico-chimie et les essais qui se sont révélés sensibles pour au moins un des échantillons caractérisés sont également retenus (Vf 30 mn, Bc 48 h et Hi 6j).

Par conséquent, les essais pour lesquels aucun effet toxique n'a été mis en évidence ne sont pas pris en compte ainsi que les autres paramètres physico-chimiques dosés dans les différents échantillons. Cependant, la globalité des données acquises au cours de cette phase de caractérisation (physico-chimique, granulométrique et écotoxicologique) sera utilisée au moment de la discussion en vue de mieux apprécier les effets toxiques mis en évidence.

Les résultats de la caractérisation du risque sont présentés par horizon étudié (ES, B et H) et au moyen de tableaux comparatifs. En ce qui concerne les légendes utilisées, elles expriment si les concentrations dosées ou la toxicité observée pour les échantillons des stations S3 et S4 sont du même ordre de grandeur que (≈), supérieures (>) ou inférieures (<) à celles correspondant à l'échantillon de la station S2. Ainsi :

a) sur la base des caractéristiques physico-chimiques des échantillons :

- plus il y a de symboles « < », plus les concentrations dosées pour le paramètre concerné dans les échantillons S3 et S4 sont inférieures à celles dosées pour ce même paramètre dans l'échantillon S2 ;
- plus il y a de symboles « > », plus les concentrations dosées pour le paramètre concerné dans les échantillons S3 et S4 sont supérieures à celles dosées pour ce même paramètre dans l'échantillon S2 ;

b) sur la base des caractéristiques écotoxicologiques des échantillons :

- plus il y a de symboles « < », plus les échantillons S3 et S4 peuvent être qualifiés de moins toxiques que l'échantillon S2 ;
- plus il y a de symboles « > », plus les échantillons S3 et S4 peuvent être qualifiés de plus toxiques que l'échantillon S2 ;

VI.4.1. Eau de surface

Le Tableau 86 présente les résultats de la comparaison des données des stations aval (S3 et S4) par rapport à celles de la station amont (S2), pour les échantillons d'Eau de Surface (ES).

L'analyse de ce tableau permet de constater que les échantillons des stations S3 et S4 contiennent plus de MES que la station S2, ce qui pourrait expliquer le fait que les concentrations en métaux de la fraction particulaire de ces 2 échantillons soient globalement supérieures à celles dosées dans la fraction particulaire de l'échantillon de la sation S2, mais dans des proportions relativement faibles (à l'exception du Pb particulaire). Pour les métaux dissous, on peut dire que les échantillons prélevés en aval du DO sont relativement moins chargés en métaux dissous que l'échantillon amont (S2).

Les valeurs de DCO mesurées n'établissent pas de différence en les 3 échantillons alors que l'ion ammonium (NH_4^+) établit une différence entre l'échantillon prélevé en amont du DO (S2) par rapport à ceux prélevés en aval du DO.

En conclusion, il est permis de dire que ces 3 échantillons sont relativement différents et que les échantillons « aval » (S3) et (S4) sont plus pollués que celui prélevé en « amont », mais que cette pollution reste dans des proportions modérées.

Tableau 86 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes de la colonne d'eau des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Echantillon			S3-ES	S4-ES
S2-ES	**Physico-chimie**			
	MES		>>	>>
	NH_4^+		>	>>
	DCO		≈	≈
	Cd	dissous		
		particulaire	>	>
	Cr	dissous	<	<
		particulaire	>	>
	Cu	dissous	≈	>
		particulaire	>	>
	Ni	dissous	≈	<
		particulaire	>	>
	Pb	dissous		
		particulaire	>>	>>
	Zn	dissous		
		particulaire	>	<
	Ecotoxicologie			
	Hi 6j	mortalité	<	<
		croissance	>	>

Légendes :
≈ : même ordre de grandeur
" > " : concentration ou toxicité plus importante que pour S2
" < " : concentration ou toxicité moins importante que pour S2
" << " ou " >> " : facteur de différence relativement important
: Non Détecté

En ce qui concerne l'aspect écotoxicologique, un seul essai (Hi 6j) permet de différencier les caractéristiques des échantillons « aval » de celui prélevé en « amont » du DO. On peut conclure, au regard des résultats de l'essai Hi 6j (ostracode) que les échantillons S3-ES et S4-ES sont moins favorables à la croissance des ostracodes que l'échantillon S2 même si ce dernier a plus d'impact sur la mortalité des ostracodes.

Il importe aussi de signaler que, malgré les observations faites sur la base des caractérisiques physico-chimiques et écotoxicologiques des échantillons des 3 stations d'étude, les organismes tests sont globalement moins affectés par les échantillons testés par rapport aux organismes des récipients témoins de chacun de ces essais (voir Tableau 84 et Tableau 85). A titre d'exemple, les ostracodes vivants en fin d'essai dans les 3 échantillons testés étaient de plus grande taille que ceux du récipient témoin de l'essai ostracode. Il serait probablement nécessaire de modifier l'apport en nourriture dans le témoin en vue d'améliorer la croissance des organismes.

En prenant en compte ces constatations et ces remarques, on peut conclure que, ***pour la période où les prélèvements ont été réalisés, qui correspond à une période où le DO était inactif, les échantillons d'Eau de Surface (ES) ne présentent pas de risques majeurs pour le bon fonctionnement de l'écosystème***. Néanmoins, il y a quand même quelques éléments (NH_4^+, Pb particulaire, …) qui ont été dosées à des concentrations qui peuvent altérer le bon fonctionnement de la rivière Chaudanne, et plus particulièrement des stations en aval du DO (S3 et S4), sur le long terme.

VI.4.2. Zone benthique

Le Tableau 87 présente les résultats de la comparaison des données des stations aval (S3 et S4) par rapport à celles de la station amont (S2), pour les échantillons du compartiment benthique (B) de la rivière Chaudanne.

En analysant ce tableau on constate que les concentrations en métaux dissous, à l'exception du Zn dissous, sont moins importantes ou bien du même ordre de grandeur que celles dosées dans le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon benthique de la sation S2.

Pour les particules fines (PF) de la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons benthiques des 3 stations d'étude, les concentrations en métaux des « PF » des échantillons S3 et S4 sont significativement supérieures aux concentrations dosées dans les « PF » de l'échantillon S2. Les concentrations en métaux dosées dans les « PF » de S4-B peuvent même être qualifiées de très différentes de celles dosées dans les « PF » de S2-B. Ces résultats pourraient expliquer l'importante toxicité mise en évidence pour la fraction « EPF » de S4-B par rapport au caractéristique écotoxique de la fraction « EPF » de S2-B, à l'exception du critère d'effet « mortalité des ostracodes ».

Sur la base de ces résultats, on peut conclure que les rejets du DO contribuent grandement à la charge polluante décelée dans la fraction « EPF » de la zone benthique en aval de ce DO, au niveau des stations S3 et S4 (et plus spécifiquement en ce qui concerne la station S4), ce qui se traduit par la mise en évidence d'effets toxiques plus importants que ceux mis en évidence pour la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone benthique de la station amont (S2).

En ce qui concerne la valeur de DCO mesurée pour la station S4, elle indique que la pollution organique de la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone benthique de la station S4 est légèrement inférieure à celle de la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone benthique de la station S2.

En conclusion, on peut dire que la fraction « EPF » des échantillons de la zone benthique de ces 3 stations d'étude sont significativement différentes et que les échantillons « aval » (S3-B « EPF ») et S4-B « EPF ») sont plus pollués que celui prélevé en « amont » (S2-B « EPF »). Cette différence pourrait trouver son origine dans les apports en polluants liés aux déversements à répétition des RUTP du DO du Pont de la Barge dans la rivière Chaudanne.

Tableau 87 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes du compartiment benthique des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Echantillon			S3-B			S4-B		
			Total	EPF	SG	Total	EPF	SG
S2-B	Total	**Physico-chimie**						
		Cd dissous						
		Cr dissous	≈			<		
		Cu dissous	≈			<		
		Ni dissous	≈			≈		
		Pb dissous						
		Zn dissous	>			>		
	EPF	**Physico-chimie**						
		DCO		>			<	
		Cd PF		>>			>>>	
		Cr PF		>>			>>>	
		Cu PF		>>			>>>	
		Ni PF		>>			>>	
		Pb PF		>>			>>>	
		Zn PF		>>			>>>	
		Ecotoxicologie						
		Bc 48 h		≈			>>>>	
		Hi 6j mortalité		<			<<<	
		Hi 6j croissance		≈			>>	
	SG	**Physico-chimie**						
		Cd SG			>			≈
		Cr SG			>			<
		Cu SG			<			<
		Ni SG			≈			≈
		Pb SG			<			≈
		Zn SG			>			>
		Ecotoxicologie						
		Hi 6j mortalité			>			≈
		Hi 6j croissance			<			>>

Légendes :
≈ : même ordre de grandeur
" > " : concentration ou toxicité plus importante que pour S2
" < " : concentration ou toxicité moins importante que pour S2
" << " **ou** " >> " : facteur de différence relativement important
" <<< " **ou** " >>> " : facteur de différence significativement important
" <<<< " **ou** " >>>> " : facteur de différence très important
: Non Détecté
: Sans objet

Pour les sédiments grossiers (SG) des échantillons benthiques des 3 stations d'étude, les concentrations en métaux des « SG » des échantillons S3 et S4 ne se différencient pas de manière très significative de celles dosées dans les « SG » de l'échantillon S2. Il en est de même pour les résultats de toxicité, à l'exception du critère d'effet « croissance des ostracodes (*H. incongruens*) » de la station S4 qui marque un caractère plus toxique de la fraction « SG » de cet échantillon par rapport à la fraction « SG » de S2-B.

On peut conclure à l'existence d'un risque plus important en ce qui concerne le compartiment benthique des stations « aval » du DO (S3 et S4) par rapport à la situation en amont du DO (en S2) et que ce risque est nettement plus prononcé en ce qui concerne la fraction « EPF » des échantillons benthiques de S3 et surtout de S4 que le risque associé à la fraction « SG » des échantillons benthiques des ces mêmes stations (S3 et S4).

VI.4.3. Zone hyporhéique

Les résultats de la comparaison des données des stations aval (S3 et S4) par rapport à celles de la station amont (S2), pour les échantillons du compartiment hyporhéique (H) de la rivière Chaudanne sont présentés dans le Tableau 87.

Sur la base de ce tableau on constate que les concentrations en métaux dissous des échantillons S3-H et S4-H, à l'exception du Ni dissous pour ces 2 échantillons, sont globalement moins importantes que les concentration dosées dans le filtrat à 0,45 µm de l'échantillon hyporhéique de la sation S2 (S2-H). Cette constatation s'applique sans exception au filtrat de S4-H3 qui présente des concentrations en métaux dissous moins importantes que celles dosées pour S2-H.

Pour les particules fines (PF) de la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons hyporhéiques des 3 stations d'étude, les concentrations en métaux des « PF » des échantillons S3 se subdivisent en 2 grands groupes : « inférieures ou très inférieures » et « supérieures ou très supérieures ») ; il est par conséquent difficile de dégager une tendance générale. Pour S4-H « EPF » par contre, la tendance générale est que les concentrations en métaux sont très inférieures aux concentrations dosées pour S2-H « EPF », sauf en ce qui concerne le Cd et le Pb. Mais quand on s'intéresse à S4-H3 « EPF », les concentrations dosées dans cet échantillon sont significativement supérieures aux concentrations dosées dans S2-H « EPF ».

Sur la base de ces résultats, on peut penser que les rejets du DO peuvent être à la base de cette différence de concentrations en métaux entre la situation amont et la situation aval et plus spécifiquement en ce qui concerne la fraction « EPF » du point S4-H3 ; ce qui se traduit par la mise en évidence d'effets toxiques plus importants que ceux mis en évidence pour la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone hyporhéique de la station amont (S2).

La valeur de DCO mesurée pour la station S4 indique que la pollution organique de la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone hyporhéique de la station S4 est légèrement supérieure à celle de la fraction « EPF » de l'échantillon de la zone hyporhéique de la station S2. Pour la station S3 par rapport à la station S2, la constatation est à l'inverse de ce qui est observé pour la station S4 par

rapport à la station S2. Pour l'échantillon S4-H3, les mesures révèlent uniquement que la valeur de DCO pour cet échantillon est différente de celle de la station S2.

En conclusion, on peut affirmer que les fractions « EPF » des échantillons de la zone hyporhéique de ces 3 stations d'étude sont différentes mais il est difficile de conclure à un état globalement plus pollué pour les échantillons « aval » (S3-H « EPF » et S4-H « EPF ») que celui prélevé en « amont » (S2-H « EPF ») sauf en ce qui concerne le point S4-H3 « EPF » qui est nettement plus pollué que S2-H « EPF ». D'un point de vue écotoxicologique, il ressort clairement que les échantillons aval (S3-H « EPF » et S4-H « EPF ») sont plus toxiques que celui prélevé en « amont » (S2-H « EPF »).

Tableau 88 : Caractérisation du risque écotoxicologique pour les organismes du compartiment hyporhéique des stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Echantillon			S3-H			S4-H			S4-H3		
			Total	EPF	SG	Total	EPF	SG	Total	EPF	SG
S2-H	Total	**Physico-chimie**									
		Cd dissous									
		Cr dissous	<			<<			<<		
		Cu dissous	<<			<<			<		
		Ni dissous	>			>			<<		
		Pb dissous									
		Zn dissous	<<			<<			<		
	EPF	**Physico-chimie**									
		DCO		<			>			?	
		Cd PF		>>			≈			≈	
		Cr PF		<			<<			>>>	
		Cu PF		<			<<			>>>	
		Ni PF		>			<<			>>>	
		Pb PF		>			>			>>>>	
		Zn PF		<<			<<<			>	
		Ecotoxicologie									
		Vf 30 mn		≈			>>>			>>>>	
		Bc 48 h		>>>>			>			>>>>	
		Hi 6j mortalité		<<			<			<<	
		Hi 6j croissance		<			<			<<	
	SG	**Physico-chimie**									
		Cd SG			>>			>			>
		Cr SG			>>			<<			<<
		Cu SG			>>			>>			>>
		Ni SG			>>			<<			<<
		Pb SG			>>			>>			>>>
		Zn SG			>			<			<
		Ecotoxicologie									
		Hi 6j mortalité			<			<			≈
		Hi 6j croissance			<<<<			>>>			>>>>

Légendes :
≈ : même ordre de grandeur
" > " : concentration ou toxicité plus importante que pour S2
" < " : concentration ou toxicité moins importante que pour S2
" << " **ou** " >> " : facteur de différence relativement important
" <<< " **ou** " >>> " : facteur de différence significativement important
" <<<< " **ou** " >>>> " : facteur de différence très important
: Non Détecté
: Sans objet

Pour les sédiments grossiers (SG) des échantillons hyporhéiques des 3 stations d'étude, les concentrations en métaux des « SG » des échantillons S3 et S4 sont bien différentes par rapport à l'échantillon S2 ; elles sont globalement supérieures (à quelques exceptions près) aux concentrations dosées dans les « SG » de l'échantillon S2, surtout en ce qui concerne la station S3. Les réponses toxiques sont également différentes et même de manière significative dans le cadre du critère d'effet « croissance des ostracodes (*H. incongruens*) ».

On peut donc conclure à l'existence d'un risque plus important en ce qui concerne le compartiment hyporhéique des stations « aval » du DO (S3 et S4) par rapport à la situation en amont du DO (en S2) aussi bien en ce qui concerne la fraction « EPF » des échantillons hyporhéiques de S3 et surtout de S4 que la fraction « SG » des échantillons hyporhéiques de ces mêmes stations (S3 et S4).

VI.4.4. Synthèse de la caractérisation du risque pour les organismes de la rivière Chaudanne sur la base d'une approche *a posteriori*

Le bilan de cette EDREcotox *a posteriori* pour les organismes de la rivière Chaudanne fait clairement ressortir les zones à risque relatives à certains compartiments de cette rivière, dans la limite des hypothèses de base émises au cours de l'élaboration et de l'application de cette méthodologie.

En effet, il y a certes certains aspects qui n'ont pas été abordés dans cette première approche méthodologique mais cela n'empêche pas la mise en évidence d'un risque pour les compartiments benthique et hyporhéique de la rivière d'étude. Les conclusions globales de cette EDREcotox, surtout en ce qui concerne les risques mis en évidence pour ces 2 compartiments et pour les stations en aval du DO (S3 et S4) sont globalement cohérentes avec les principales conclusions de l'étude de Vivier [2006] qui font état d'une situation plus polluée en « aval » qu'en « amont » du DO du Pont de la Barge et que cette situation serait nettement plus inquiétante au niveau de la station S4.

PARTIE D : DISCUSSION

Cette partie du document est destinée à une analyse des différents résultats de la thèse en vue de dégager la contribution de ce travail en termes d'apport d'informations, de méthodologies permettant d'améliorer l'état des connaissances sur la problématique des RUTP vis-à-vis des écosystèmes lotiques. Cette analyse des résultats a également permis de formuler certaines recommandations pour une meilleure gestiond des RUTP au niveau des sites d'étude.

I. ETUDE DE L'ECOTOXICITE ET DES EFFETS COMBINES DE POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

I.1. POLLUANTS RETENUS - SUBSTANCES ETUDIEES - ORGANISMES TESTS ET MILIEU D'ESSAI

I.1.1. Les choix réalisés

Dans la partie consacrée à l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés de polluants présents dans les RUTP, seulement 4 métaux (Cd, Cu, Pb, Zn) et l'ammonium ont été pris en compte parmi les différents polluants présents dans ce type de rejet. Ce choix a été réalisé *a priori*, en se basant sur la littérature disponible sur les RUTP. Le choix s'est révélé judicieux, car ces 4 métaux ainsi que l'ammonium sont pratiquement toujours présents et à des concentrations qui peuvent être qualifiées de relativement importantes (pour certains éléments) dans les différents échantillons de RUTP caractérisés dans le cadre de ce travail.

En ce qui concerne les métaux, il est admis que leur biodisponibilité est directement liée aux formes sous lesquelles ils se trouvent et que seuls les métaux sous forme ionique et certains complexes inorganiques et organiques sont considérés comme biodisponibles [INERIS, 2004]. En vue de s'assurer de disposer d'un maximum de cations métalliques libres en solution, il a été choisi de tester ces métaux sous la forme initiale de sels de nitrates. Néanmoins, on a pu constater qu'il existe très peu de données de littérature sur l'écotoxicité de certains de ces métaux introduits sous cette forme. Pour l'ammonium, le choix s'est porté sur la forme de sulfate, qui est très soluble également, parce qu'elle s'est révélée être la forme la plus toxique par rapport au nitrate d'ammonium.

Les polluants retenus ont été étudiés vis-à-vis de 2 organismes couramment utilisés en écotoxicologie aquatique : le crustacé *Daphnia magna* (Dm) et l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) Toutefois, pour des contraintes de faisabilité, des essais algues n'ont pas été mis en œuvre avec l'ammonium.

En choisissant ces 2 organismes, on a pu ainsi travailler avec des protocoles normalisés, des organismes sensibles aux polluants étudiés et représentatifs des milieux dulçaquicoles. De plus, cette association a permis d'obtenir des données sur la toxicité aiguë (daphnie) et la toxicité chronique (algue Ps) de ces polluants. On a également choisi de travailler avec les milieux d'essai figurant dans les normes utilisées, surtout en ce qui concerne le test algue. En effet, le milieu utilisé (milieu ISO) contient de l'EDTA qui présente un fort pouvoir complexant vis-à-vis des métaux. Mais ce choix, couplé aux calcul de spéciation réalisé ont permis d'apporter des éléments d'informations intéressants concernant la biodisponibilité des complexes solubles formés entre chaque métal et l'EDTA.

En ce qui concerne l'étude des effets combinés, son importance est relatée dans plusieurs travaux de recherche ([Altenburger *et al.*, 1990] ; [Parrott et Sprague, 1993; Yang, 1994] ; [Backhaus *et al.*, 2003] ; [Feron et Groten, 2002] ; [Otitoloju, 2003]). Dans le cadre de ce travail, on a choisi de ne réaliser que des mélanges simples (mélanges binaires) mais en les testant sur la base de différents ratios. La littérature sur l'étude des effets combinés encouragent cette approche ([Berenbaum, 1981] ; [Altenburger *et al.*, 1990] ; [Yang, 1994] ; [Kortenkamp et Altenburger, 1998] ; [Backhaus *et al.*, 2000] ; [Otitoloju, 2002] ; [Samoura, 2004] ; [Boillot, 2008] ; [Angerville *et al.*, 2009]). Les

différents mélanges binaires réalisés ont été étudiés au moyen des mêmes ratios que ceux figurant dans l'étude d'Otitoloju [2002]. Il existe d'autres approches dans la littérature ([Altenburger *et al.*, 1990]) mais cette gamme de 5 ratios a déjà été utilisée pour une étude avec des sels métalliques et elle permet d'apprécier différentes facettes des mélanges binaires étudiés. Cependant, il est tout à fait possible d'approfondir cette étude en utilisant d'autres ratios.

Le modèle des TI a été retenu pour l'appréciation des effets combinés des mélanges binaires étudiés. Il n'est pas le seul modèle qui permet de mettre en évidence les effets combinés au sein des mélanges ([Altenburger *et al.*, 1990] ou dans la partie bibliographie de ce document), cependant, il permet de dégager très facilement les caractéristiques générales des interactions dans des mélanges ([Yang, 1994] ; [Emmanuel, 2004]).

Cette étude de l'écotoxicité et des effets combinés des polluants présents dans les RUTP constitue une première approche de cette démarche en raison du fait : qu'elle ne tient pas compte d'un grand nombre de polluants présents dans ce type de rejet ; qu'elle ne tient pas compte de tous les mélanges possibles entre ces différents polluants, … Néanmoins, sur la base des résultats obtenus, cette étude permet de confirmer la nécessité de poursuivre les recherches dans ce sens et d'approfondir ces premiers résultats.

I.1.2. Les résultats d'écotoxicité obtenus pour les substances seules

Les essais mis en œuvre vis-à-vis de la daphnie et de l'algue Ps ont conduit au classement suivant des sels testés, sur la base d'une écotoxicité décroissante :

- Daphnie : $Cu(NO_3)_2 > Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 > (NH_4)_2SO_4$
- Algue Ps : $Cu(NO_3)_2 > Pb(NO_3)_2 \approx Cd(NO_3)_2 > Zn(NO_3)_2$

Le sel de cuivre ($Cu(NO_3)_2$) ressort comme la substance la plus écotoxique vis-à-vis des 2 organismes tests. En ce qui concerne le classement général des sels métalliques, il est voisin de celui rencontré dans la littérature même si ces métaux ne sont pas toujours testés sous la forme de nitrates dans ces études. Otitoloju [2002] a montré que le sulfate de Cd s'est révélé 1,3 fois et 3 fois plus toxique que le sulfate de Cu et le carbonate de Zn, respectivement, vis-à-vis *T. fuscatus*. An et al. [2004] ont montré que le chlorure de Cu s'est révélé le plus toxique des sels métalliques testés vis-à-vis de *C. sativus*, suivi par le chlorure de Cd et par le chlorure de Pb. Samoura [2004] a montré que le sulfate de Cu s'est révélé le plus toxique des sels métalliques testés vis-à-vis de *P. subcapitata*, suivi par le chlorure de Cd, le sulfate de Zn, le nitrate de Pb, et le bichromate.

La comparaison des réponses toxiques observées par rapport à d'autres données de la littérature reste un exercice assez délicat en raison de la variabilité qui peut exister au niveau des protocoles utilisés. Néanmoins, nous pouvons constaté que la CE_{50}-72h Ps expérimentale obtenue pour le $Pb(NO_3)_2$ (92,9 µg/L) est relativement proche de celle obtenue par Samoura [2004] pour ce même sel métallique (66,42 µg/L). Un certain nombre d'éléments peuvent aider à comprendre cette différence : la technique de quantification de la croissance algale (comptage des cellules au microscope vs spectrofluorimétrie), … De plus, on ne dispose pas les données de spéciation des métaux dans le cadre de l'étude de Samoura [2004], ce qui ne permet pas de réaliser une bonne comparaison en ces deux jeux de données.

I.1.3. Les résultats d'écotoxicité obtenus pour les mélanges binaires

Si l'on se base sur la comparaison des valeurs de CE_{50} expérimentales obtenues, on est en mesure de dire que les effets mis en évidence, au moyen des essais mis en œuvre vis-à-vis de la daphnie et de l'algue Ps, semblent être fonction des ratios testés. Cependant, dans certains cas, cet « effet ratio » est bien visible, tandis que dans d'autres cas (surtout en ce qui concerne le test algue Ps) l'« effet ratio » semble être inexistant pour certains mélanges binaires.

Afin de trancher clairement sur l' « effet ratio », il serait intéressant de compléter ces premières observations au moyen d'autres analyses (statistiques, par exemple) ou encore par la mise en œuvre d'autres essais en laboratoire qui permettraient de mettre en évidence la répétabilité de ces observations.

I.2. L'ETUDE DES EFFETS COMBINES

I.2.1. Les effets combinés observés

Les effets combinés des mélanges binaires étudiés ont été appréciés au moyen du modèles des TI qui repose sur la CE_{50} expérimentales des substances pures et des différents ratios des mélanges binaires. Les calculs effectués ont mis en évidence les trois types d'effets possible (synergie, additivité, antagonisme) sur la base des intervalles définis par Marking [1977] et Belkhadir [1979]. On a pu constater que (tout mélange confondu) :

- par rapport à la daphnie et pour un total de 30 ratios testés pour les mélanges binaires de nitrates métalliques ; et, pour les 5 ratios des mélanges binaires NH4/Cu, les effets observés se répartissent de la manière suivante :

Mélanges binaires de nitrates métalliques			**Mélanges binaires NH4/Cu**
Synergie (légère ou modérée)	**Additivité**	**Antagonisme (léger ou modéré)**	**Synergie (Stricte ou modérée)**
22/30	2/30	6/30	5/5

- par rapport au test algue Ps et pour un total de 30 ratios testés pour les mélanges binaires de nitrates métalliques, les effets observés se répartissent de la manière suivante :

Mélanges binaires de nitrates métalliques		
Synergie (légère)	**Additivité**	**Antagonisme (léger)**
16/30	1/30	13/30

Par contre, si l'on se réfère aux travaux de Deneer [2000] (pour des valeurs de TI comprises entre 0,5 et 2,0 on peut conclure à l'additivé des concentrations), le classement se présente de la manière suivante :

- par rapport à la daphnie et pour les 30 ratios testés pour les mélanges de nitrates métalliques ; les 5 ratios des mélanges binaires NH4/Cu, les effets observés se répartissent de la manière suivante :

Mélanges binaires de nitrates métalliques				Mélanges binaires NH4/Cu
Synergie	**Additivité**	**Antagonisme**		**Synergie**
10/30	18/30	2/30		5/5

- par rapport au test algue Ps et pour les 30 ratios testés pour les nitrates métalliques, les effets observés se répartissent de la manière suivante :

Mélanges binaires de nitrates métalliques		
Synergie	**Additivité**	**Antagonisme**
-	30/30	-

Il est intéressant de constater qu'en dépit des bases de comparaison utilisées ([Marking, 1977] et [Belkhadir, 1979] ou [Deneer, 2000]), on arrive à mettre en évidence des effets de synergie ou d'antagonisme pour les mélanges binaires étudiés. D'autres travaux de recherche confortent ces effets de synergie et d'antagonisme : Otitoloju [2002] a mis en évidence des effets d'antagonisme pour RTU = 0,94 et à des effets de synergie pour RTU = 1,08 (avec RTU = CE_{50} prédite sur la base du modèle CA divisé par CE_{50} expérimentale) pour des métaux (Cd, Cu, Pb, Zn) testés vis-à-vis de *T. fuscatus* ; An et al. [2004] ont mis en évidence les 3 types d'effets (synergie, additivité, antagonisme) pour des métaux (Cd, Cu, Pb) testés vis-à-vis de *C. sativus* ; Rayburn *et al.* [1995] et Cedergreen *et al.* [2006] relatent des valeurs de TI de 0,25.

Notons, toutefois, que certains effets de synergie ou d'antagonisme plus importants ont été mis en évidence dans la littérature. A titre d'exemple, Otitoloju [Otitoloju, 2003] a mis en évidence des effets d'antagonisme sur la base d'une valeur de RTU = 0,05, pour des mélanges de métaux (Cu, Cd, Hg, Pb, Zn) testés vis-à-vis de *C. africanus*. Dans le cadre de cette étude, les calculs réalisés ont conduit à une valeur de RTU = 0,36 (mélange Cd40-Zn60 testé vis-à-vis de *D. magna*) comme étant la plus faible valeur qui correspond à un effet d'antagonisme.

I.2.2. Effets combinés : Modèle utilisé vs autres modèles existants

Par rapport aux différents modèles présentés dans la revue bibliographique, le choix s'est porté sur le modèle des TI pour étudier les effets combinés des mélanges réalisés. Mais, il serait maintenant intéressant de conforter ces premiers résultats en utilisant d'autres modèles (CA, IA, TU, …) qui permettront de mieux apprécier les mécanismes d'action de ces polluants par rapport aux organismes tests utilisés et au type d'écotoxicité étudiée (aiguë et chronique). En effet, Suter II [2006] a souligné que suivant le type d'exposition (aiguë ou chronique), les substances mettent en jeu des mécanismes d'action différents.

I.2.3. Effets combinés et EDREcotox

Plusieurs auteurs ont déjà souligné l'intérêt de prendre en compte les effets combinés des polluants aussi bien dans le cadre d'une démarche d'élaboration de valeurs seuils pour la protection de l'environnement qu'au cours d'une démarche d'évaluation des risques (EDR) : [Groten, 2000] ; [Feron et Groten, 2002] ; [INERIS, 2003a] ; [Otitoloju, 2003] ; [Suter II, 2006].

Dans le cas des mélanges de substances toxiques, l'INERIS [2003a] souligne que, pour des substances chimiquement proches ou dont les modes d'actions sont supposés identiques et non spécifiques, la contribution de chacune de ces substances au risque du rejet peut être additive. Dans le cadre de notre étude, en considérant que les substances qui appartiennent à un même groupe de polluants (les métaux), on a pu mettre en évidence des effets autres que de l'additivité. Pour de telle situation, il n'y a pas encore de démarche clairement définie qui prennent en compte les effets de synergie ou d'antagonisme dans les méthodologies d'EDREcotox.

Cette étude s'inscrit également parmi celles qui font ressentir le besoin de se pencher sur cette problématique. Les effets de synergie ou d'antagonisme relativement significatifs qui ont été mis en évidence pour les mélanges binaires étudiés vis-à-vis des organismes tests *D. magna* et *P. subcapitata* rendent difficile l'application de la recommandation de l'INERIS [2003a] relative à la prise en compte des interactions qui peuvent exister entre des substances en mélange.

I.3. APPORT DES RESULTATS DE LA SPECIATION A LA COMPREHENSION DE L'ECOTOXICITE DES POLLUANTS ET DES EFFETS COMBINES MIS EN EVIDENCE

Il est admis que les concentrations métalliques totales constituent de mauvais indicateurs d'effets sur les organismes du compartiment aquatique [Meyer, 2002]. Cependant, pour quelques métaux (par exemple Ag, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn), les concentrations en ions métalliques libres mais également celles de certains complexes sont, semble-t-il, principalement responsables de la toxicité [Campbell, 1995] ; [INERIS, 2004].

Les calculs de spéciation réalisés pour les différents essais confirment cette tendance. Ces calculs ont également permis de mettre en évidence les complexes solubles formés dans les solutions d'essai utilisées. Et, il est fort possible que certains de ces complexes contribuent grandement aux effets toxiques mis en évidence, surtout en ce qui concerne le cuivre ou encore les essais mis en œuvre vis-à-vis de l'algue Ps.

Plusieurs études dans la littérature ont déjà mis en évidence le rôle de certains complexes solubles dans la toxicité observée vis-à-vis de certains organismes : par exemple, la toxicité du complexe $CuOH^+$ a été prise en compte dans certains travaux pour expliquer la toxicité du cuivre envers *Daphnia magna* [De Schamphelaere et Janssen, 2002]. D'autres travaux proposaient également une démarche similaire [Blust *et al.*, 1991] ; [Allen et Hansen, 1996] ; [INERIS, 2004]. Une autre étude a identifié une augmentation importante de la toxicité de certains métaux (Cd, Zn) en présence de métabolites de poids moléculaire faible (ex. le citrate) ainsi que le mécanisme responsable de cette toxicité accrue (prise en charge "accidentelle" ou "piggy-back" transport) [Campbell, 1995] ; [Errecalde *et al.*, 1998] ; [Casas, 2005]. Campbell *et al.* [2002] indiquent que certains complexes du cadmium, du cuivre et du zinc peuvent être captés par les globules rouges. D'autres études relatent plus spécifiquement les effets toxiques mis en évidence au moyen des tests algues dans des milieux d'essai contenant des complexants forts (tel que l'EDTA) : [Muyssen et Janssen, 2001] ; [Guéguen *et al.*, 2003] ; [Ma *et al.*, 2003] ; [Sigg *et al.*, 2006]. Mayfield *et al.* [1987] ont déjà montré la toxicité des complexes Cu-EDTA et Zn-EDTA chez l'algue *Scenedesmus quadricauda* [Samoura, 2004]. Au regard de toutes ces données, on peut donc conclure à la mise en évidence de la contribution de certains complexes solubles formés, aussi bien dans les milieux d'essais des substances seules que dans les milieux d'essais des mélanges binaires, dans la toxicité observés pour les sels testés vis-à-vis de la daphnie et de l'algue Ps. Les principaux complexes solubles formés dans ces différents milieux d'essais ont été présentés dans le paragraphe I.4 (page 240) de la partie « Résultats ».

Il est également relaté que la modification des caractéristiques physico-chimiques du milieu peut entraîner d'importants changements de biodisponibilité [INERIS, 2004]. Dans le cadre de cette étude, la composante biotique, i. e. les organismes tests, n'a pas été pris en compte dans les calculs de spéciation. Or, ces derniers peuvent modifier les équilibres chimiques sur la base des interactions métal/organisme, par exemple, qui peuvent exister dans les tubes à essai. Ces interactions seraient régies par un « ligand biologique » qui est une cible biologique préférentielle du contaminant étudié. Certains sites d'accumulation et/ou d'expression de la toxicité aiguë des métaux sur les organismes vivants sont considérés comme des ligands biotiques. L'analogie entre la fixation des métaux au niveau des membranes biologiques et les phénomènes de complexation permet le développement de modèles de la même manière que pour la spéciation chimique (inorganique et organique) [INERIS, 2004].

Le fait de n'avoir pas intégré la composante biologique dans les calculs de spéciation réalisés constituent donc l'une des limites de cette étude. Les résultats des calculs de spéciation n'apportent donc qu'une partie des informations qui pourraient permettre de mieux apprécier les effets toxiques mis en évidence vis-à-vis des 2 organismes tests utilisés. Les implications de cette limite ainsi que des pistes d'approche sont présentées dans le paragraphe traitant des principales limites de ce travail de thèse (paragraphe IV de la partie « Discussion », page 381).

I.4. SYNTHESE SUR L'ETUDE DE L'ECOTOXICITE ET DES EFFETS COMBINES DES POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

L'étude réalisée sur l'écotoxicité et les effets combinés de polluants qui sont présents dans les RUTP a permis de mettre en évidence des effets toxiques relativement importants aussi bien pour les sels testés seul que pour leurs mélanges binaires. Les 3 types d'effets combinés rencontrés dans la littérature (synergie, additivité, antagonisme) ont été observés pour les mélanges binaires qui ont été étudiés, avec une prédominance des effets de synergie. Ainsi, sur la base de la littérature existante sur l'étude des effets combinés ([Marking, 1977] et [Belkhadir, 1979] ; [EIFAC, 1980] ; [Deneer, 2000] ; [Mercier, 2002]), les résultats obtenus mettent en évidence l'existence d'effets de synergie ou d'antagonisme qui peuvent être qualifiés d'importants dans certains cas, pour les mélanges binaires des sels étudiés vis-à-vis de *D. magna* et *P. subcapitata*.

Les résultats des calculs de spéciation permettent de dire que, en plus des ions libres des éléments testés, il y a des complexes solubles qui semblent contribuer grandement aux réponses toxiques observées. Néanmoins, pour conforter ces premières observations, il est nécessaire de faire appel à des approches qui permettent de prendre en compte les interactions qui peuvent exister entre les éléments testés (métal, ammonium, …) et l'organisme test (*Daphnia magna*, algue Ps).

En plus de cette remarque, nous pensons qu'il est également nécessaire de compléter cette étude en :

- prenant en compte d'autres substances qui sont présents dans les RUTP ;
- augmentant le degré de complexité des mélanges ou en testant d'autres ratios ;
- utilisant d'autres modèles pour l'étude des effets combinés des polluants en mélange (CA, IA, …) ;
- utilisant d'autres bioessais développés avec d'autres organismes de la colonne d'eau (bactérie, rotifère, …) ou bien des organismes vivant dans les zones benthique ou hyporhéique des milieux aquatiques ;
- approfondissant les observations faites sur les phénomènes d'hormèse qui ont été observés ;
- se donnant les moyens de mesurer les fractions libres ou biodisponibles des métaux par l'utilisation de sondes spécifiques ;
- s'intéressant aux polluants qui sont adsorbés sur les particules (les MES).

II. LA CARACTERISATION DES ECHANTILLONS DE RUTP PRELEVES

II.1. LES APPROCHES UTILISEES POUR LA CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUES DES ECHANTILLONS DE RUTP

II.1.1. Choix des sites d'étude et des paramètres dosés dans les échantillons

Ce travail de recherche est centré sur les RUTP par une approche de caractérisation de rejets issus de deux pays présentant des caractéristiques différents. La finalité de ce travail était d'évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de ces rejets dans leurs milieux respectifs.

La sélection *a priori* des paramètres utilisés pour la caractérisation des RUTP reposait sur des données bibliographiques et sur la volonté de procéder à une caractérisation approfondie des échantillons tout en prenant en compte le niveau et le type d'urbanisation des bassins-versants des sites étudiés afin de compléter cette liste avec d'autres polluants potentiellement présents dans les RUTP.

En ce qui concerne le site français, qui est un bassin-versant péri-urbain, cela a conduit à une liste de paramètres qui semblent adaptés à ce type de bassin-versant et qui intègre la majeure partie des paramètres proposés par Eriksson [2007]. Cette sélection de paramètres a permis de balayer un large spectre de polluants pour l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge. Cependant, il n'est pas obligatoire de toujours doser l'ensemble de ces paramètres dans la caractérisation des échantillons de RUTP ; et cette gamme peut être adaptée en fonction du site d'étude.

Pour les RUTP provenant d'Haïti, les contraintes présentées dans la partie « Matériels et Méthodes » ont conduit à revoir cette liste. Les paramètres figurant dans la liste réduite dressée figurent dans la liste dressée par Eriksson [2007] et ils sont les indicateurs de pollution généralement dosés dans les RUTP. Il serait, par contre, intéressant d'intégrer à l'avenir d'autres paramètres (O_2 dissous, HAP, PCB, par exemple) à cette première liste, car les deux bassins-versants étudiés (BV CSP et BV JJD) sont essentiellement urbanisés.

Le dosage en parallèle des formes dissoutes et particulaires des polluants présents dans les RUTP constitue une approche absolument indispensable pour apprécier la pollution contenue dans ces types de rejet.

II.1.2. Les résultats physico-chimiques

II.1.21. Les caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Si on considère la première série de paramètres mesurés sur l'échantillon brut (pH, conductivité, COD, phosphates et nitrates), et qu'on compare les mesures *in situ* et les dosages en laboratoire, on constate que ces deux types de mesures conduisent à des valeurs relativement proches, ce qui permet de dire que l'échantillon ne semble pas avoir subi une grande évolution entre le moment de son prélèvement et la période à la suite de laquelle les analyses ont été réalisées au laboratoire.

En ce qui concerne l'ammonium, pour la gamme de pH mesurée pour l'échantillon, on peut conclure qu'il est réparti entre la forme NH_4^+ et la forme NH_3 qui est connue pour être la forme la plus toxique pour les organismes vivants [McKee et Wolf, 1971] ; ; [US EPA, 1999b], et que la congélation ne semble pas avoir d'effets importants sur ce paramètre.

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des RUTP du Pont de la Barge indiquent par ailleurs que l'échantillon brut présente un caractère anoxique (O_2 dissous ≈ 0,1 mg/L). Celui-ci est sans doute lié à la dégradation de la matière organique qu'il renferme, notamment celle associée à la fraction particulaire (Perte au Feu de 32%). Le potentiel redox indique, en outre, que cet échantillon peut présenter un risque de fermentation (sous certaine conditions, comme la température, par exemple).

Les résultats pour les métaux montrent que ces derniers sont le plus souvent présents à des concentrations non négligeables dans l'échantillon prélevé, notamment dans sa fraction particulaire.

Les résultats pour les HAP et les pesticides indiquent très peu de présence de ces contaminants (à quelques exceptions près) dans l'échantillon de RUTP prélevé. Ces résultats, ainsi que l'indice hydrocarbures, indiquent également que les quelques éléments présents dans l'échantillon se trouvent essentiellement dans les MES (comme indiqué dans la littérature [AERMC, 2002] ; [Gourlay, 2004]), sans être en mesure de chiffrer leur concentration dans les particules parce que cette analyse physico-chimique n'ayant pas été réalisée.

En ce qui concerne les résultats de la distribution granulométrique, on a pu confirmer que les grains de taille < 100 µm ont tendance à s'agglomérer (mesure avant et après ultrasons), d'une part, et que la majeure partie des particules des MES sont de taille < 100 µm (84%, après ultrasons), ce qui est en accord avec la littérature ([Chebbo, 1992] ; [Chocat *et al.*, 2007]). En comparant les résultats de la granulométrie à celle des analyses physico-chimiques, on peut s'attendre à trouver la plus grande part de la pollution, notamment les métaux, adsorbée sur les particules de taille < 100 µm [Ellis et Revitt, 1982].

Globalement, il ressort de cette phase de caractérisation de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge : i) que les concentrations en ammonium mesurées sont non négligeables et que celui-ci est réparti entre les formes NH_3 et NH_4^+ ; ii) que les polluants métalliques sont présents à des concentrations non négligeables dans l'échantillon prélevé, surtout dans sa fraction particulaire ; iii) qu'une grande part des polluants métalliques particulaires est associée aux particules de taille < 100 µm.

Ces résultats nous portent à penser que les polluants présents dans cet échantillon, en particulier les métaux sous forme particulaire, le rendent potentiellement toxique pour les organismes du milieu récepteur.

II.1.22. Les caractéristiques physico-chimiques des RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Si on considère la première série de paramètres suivis sur l'échantillon brut (pH, conductivité, T), et qu'on compare les mesures sur échantillons frais et les mesures sur échantillons décongelés, on constate que le cycle congélation/décongélation semble avoir une incidence sur la conductivité notamment, comme cela est indiqué dans la littérature ([Jean, 1991] ; [Plagellat, 2004]). La

littérature relate également que ces trois paramètres sont très liés ([US EPA, 1999a]) mais les données disponibles pour les deux échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne ne facilitent pas la mise en évidence d'une réelle tendance générale entre ces paramètres car ces données sont incomplètes.

Pour l'ammonium, en prenant en compte le fait que la congélation ne semble pas avoir d'importants effets sur ce paramètre (comme observé pour l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge), et pour la gamme de pH mesurée pour les deux échantillons, il est réparti entre les formes NH_3 et NH_4^+ ([McKee et Wolf, 1971] ; ; [US EPA, 1999b]) dans les échantillons prélevés.

Pour les métaux, les résultats montrent que ces derniers sont le plus souvent présents à des concentrations non négligeables dans les échantillons prélevés, notamment dans la fraction particulaire.

Pour la granulométrie, les constatations faites pour les particules des MES de l'échantillon prélevé sur le site français sont également de mises pour les échantillons du site haïtien : i) les grains de taille < 100 µm forment des « flocs » ; ii) la majeure partie des particules des MES sont de taille < 100 µm (80% pour CSP et 69% pour JJD, après ultrasons), conformément à la littérature ([Chebbo, 1992] ; [Chocat *et al.*, 2007]) ; iii) on peut s'attendre à trouver la plus grande part de la pollution, notamment les métaux, adsorbée sur les particules de taille < 100 µm [Ellis et Revitt, 1982].

En résumé, il ressort de cette phase de caractérisation des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne : i) que l'ammonium est présent à une concentration non négligeable et réparti entre les formes NH_3 et NH_4^+ ; ii) que les polluants métalliques dosés sont pratiquement tous présents dans les échantillons prélevés à des concentrations non négligeables ; iii) que les polluants métalliques particulaires pourraient être majoritairement associés aux particules de taille < 100 µm.

Par conséquent, ces échantillons sont potentiellement toxiques pour les organismes du milieu récepteur, notamment en raison de la charge métallique de leur fraction particulaire.

II.2. LES APPROCHES UTILISEES POUR LA CARACTERISATION ECOTOXICOLOGIQUE DES ECHANTILLONS DE RUTP

II.2.1. Caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge

Effets toxiques mis en évidence

La caractérisation des effets écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge a permis de mettre en évidence une écotoxicité de cet échantillon et de confirmer les principales hypothèses découlant de la caractérisation physico-chimique de cet échantillon. En effet, les résultats physico-chimiques avait permis de mettre en évidence un risque potentiel d'effets toxiques, liés à la présence de l'ammonium et des métaux ; éventuellement couplé à un problème d' O_2 dissous.

Pour la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge, en analysant les résultats écotoxicologiques par rapport à :

- la concentration en O_2 dissous de cette fraction, on peut déduire qu'une faible concentration en O_2 dissous ne semble pas être le principal paramètre expliquant les effets toxiques observés vis-à-vis de *Ceriodaphnia dubia* (Cdu) car la filtration permet de ré-oxygéner l'échantillon. De plus, l'essai Cdu 7j nécessite des renouvellements de milieu pendant la durée de l'essai ;
- l'ammonium : compte tenu de la concentration mesurée et selon sa répartition entre les formes NH_3 et NH_4^+, il peut contribuer à la mise en évidence de cette écotoxicité vis-à-vis de *C. dubia* [Clément, 1994] ; [US EPA, 1999b] ; [Bailey et al., 2001] ; [Mangas-Ramírez et al., 2002] ;
- aux métaux : ils peuvent être toxiques aux concentrations mesurées ([Janssen *et al.*, 1993] ; [Seidl *et al.*, 1998b] ; [Van Sprang Patrick et Janssen, 2001]; [Trépanier, 2005] ; [Durrieu *et al.*, 2007]), notamment vis-à-vis de *C. dubia* ([Kszos *et al.*, 1992] ; [Hyne *et al.*, 2005]), et la partie consacrée à l'étude de leurs effets combinés à mis en évidence des effets de synergie entre certains d'entre eux. Ces effets de synergie sont surtout observés pour des mélanges réalisés avec le cuivre (Cu) et testés vis-à-vis de *D. magna* (cladocère). Or, *C. dubia* (Cdu) est également un cladocère, et il est bien connu que sa sensibilité peut se révéler plus importante que celle de *D. magna* vis-à-vis de polluants métalliques ([von der Ohe et Liess, 2004]). Par conséquent, on peut déduire que les métaux semblent avoir un rôle prépondérant dans la toxicité mise en évidence vis-à-vis de Cdu.

Les métaux peuvent donc être considérés parmi les principaux polluants qui peuvent expliquer la toxicité mise en évidence pour la fraction « eau » des RUTP du DO du Pont de la Barge, vis-à-vis de *C. dubia* ; mais, cette première conclusion suscite quand même certaines réserves (voir paragraphe V.2 à la page 387).

Pour la fraction « particules » de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge, en analysant les résultats écotoxicologiques par rapport à :

- l'aspect concentration en O_2 dissous de cette fraction : il serait nécessaire d'approfondir cette question et de vérifier ultérieurement si cette faible concentration peut intervenir lors des bioessais de laboratoire, surtout pour des échantillons présentant une concentration importante en MO comme celle rencontrée dans les particules des RUTP, vis-à-vis des organismes tests utilisés ;
- aux métaux : une nouvelle fois, leur toxicité intrinsèque les place parmi les principaux responsables potentiels de la toxicité observée. En effet, *V. fischeri* est relativement sensible vis-à-vis des métaux contenus dans les matrices liquides [Santiago *et al.*, 2002], et Oleszczuk [2008] a observé que *H. incongruens* est relativement sensible aux HAP et aux métaux, ce qui permet de penser que les métaux présents dans la fraction « particules » de l'échantillon de RUTP du DO peuvent contribuer aux effets toxiques observés vis-à-vis de ces deux organismes tests.

Tout comme pour la fraction « eau », les métaux peuvent donc être considérés parmi les principaux polluants qui peuvent conduire à la toxicité mise en évidence pour la fraction « particules », de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, vis-à-vis de *V. fischeri* et de *H. incongruens*, sous réserve de la recommandation formulée en ce qui concerne la concentration en O_2 dissous.

Utilisation d'une approche batterie de bioessais mono-spécifiques

En ce qui concerne l'approche « batterie de bioessais mono-spécifiques », elle se révèle appropriée pour la caractérisation des effets de rejets de ce type, comme cela a été indiqué dans la littérature ([Marsalek *et al.*, 1999] ; [Mankiewicz-Boczek *et al.*, 2008]). Sa constitution répond aux recommandations figurant dans la littérature [ADEME, 2002b] ; [ADEME, 2005b] ; [ADEME, 2005a] ; [Charissou *et al.*, 2006].

Les résultats obtenus semblent être en accord avec les données de la littérature, en ce qui concerne la sensibilité des organismes tests utilisés :

- selon Marsalek *et al.* [1999], les essais *D. magna* 48h et Microtox® (*V. fischeri*) 15mn sont relativement sensibles vis-à-vis d'échantillons de RUTP. Dans le cadre de cette étude et en ce qui concerne la fraction « eau » de l'échantillon du DO du Pont de la Barge, ces deux organismes ne sont pas les plus sensibles des organismes constituant la batterie de bioessais mise en œuvre ;
- *D. magna* 21j, *B. calyciflorus* 48h, *P. subcapitata* 72h ne ressortent pas non plus comme les organismes les plus sensibles de la batterie de bioessais testée mais l'insuffisance de données, dans la littérature, relatives à la mise en œuvre de ces essais sur des RUTP ne permet pas de confirmer ces observations ;
- Schiff *et al.* [Schiff *et al.*, 2002] ont mis en évidence une toxicité aiguë (mortalité en 48h et 96h) d'échantillons d'« Eaux Pluviales Urbaines » vis-à-vis de *C. dubia* comprise entre 35% et 82% d'échantillon. Dans le cadre de cette étude on a mis en évidence des effets chroniques (croissance population et reproduction) de la fraction « eau » des RUTP du DO du Pont de la Barge vis-à-vis de ce même organisme. Ces deux informations tendent à confirmer que *C. dubia* semble être l'un des organismes tests les plus sensibles vis-à-vis des RUTP.

Cependant, le manque de données disponibles dans la littérature sur des essais réalisés sur des RUTP avec ces mêmes organismes ne permet pas de trancher catégoriquement sur la sensibilité de ces organismes sur un plan général. Ces résultats sont donc pour l'instant essentiellement attachés aux caractéristiques des RUTP prélevés sur le site français étudié et pour l'échantillon prélevé.

Compte-tenu de sa durée, l'essai *D. magna* 21j, constitue le seul essai qui n'est pas forcément obligatoire à mettre en œuvre. En effet, la durée de conservation de l'échantillon étant relativement long, il est possible qu'il puisse évoluer sur la durée de la conduite de l'essai Dm 21j.

Pour la fraction « particules », l'approche « batterie de bioessais » s'avère également intéressante, mais on pourrait améliorer cette batterie minimale, en réalisant l'essai *H. incongruens* sur la base d'une gamme de dilutions, et en suivant l'évolution de l'O_2 dissous pendant toute la durée de

réalisation de l'essai. Cependant, il faut tenir compte du fait que ces adaptations vont alourdir cet essai. Il est également possible d'ajouter un autre essai à cette batterie minimale.

Synthèse - Effets écotoxicologiques des RUTP du DO du Pont de la Barge

Les deux fractions (« eau » et « particules ») de l'échantillon de RUTP du Pont de la Barge présentent donc une toxicité intrinsèque pour les organismes tests et cette toxicité est plus importante pour les organismes exposés à la fraction « particules » de cet échantillon. Dans une étude réalisée par Seidl *et al.* [1998b] sur des RUTP, il est indiqué que le Cu peut se révéler toxique dans ce type de rejet même à une faible concentration. Il est par conséquent possible de placer le Cu parmi les polluants métalliques à suivre en priorité dans les RUTP. De ce fait, il serait nécessaire d'étudier ses effets pour des mélanges plus complexes et d'étudier également sa toxicité chronique (seul, puis en mélange) vis-à-vis de *D. magna* ou *C. dubia*, par exemple.

II.2.2. Caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Effets toxiques mis en évidence

Les résultats de la caractérisation des effets écotoxicologiques des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne ont permis de mettre en évidence une écotoxicité de ces échantillons. Ces résultats tendent à confirmer les principales hypothèses émises sur la base des caractéristiques physico-chimiques de ces échantillons : les échantillons CSP et JJD peuvent induire des effets néfastes pour les organismes des milieux récepteurs en raison sans doute de la présence de l'ammonium et des métaux dosés dans ces échantillons.

Pour la fraction « eau » décongelée des échantillons de RUTP du canal Bois-de-Chêne, et sur la base d'une analyse des résultats écotoxicologiques par rapport à :

- l'ammonium : ce dernier est réparti entre les formes NH_3 et NH_4^+, et pour les concentrations mesurées, il ne peut pas être le seul responsable des écotoxicités observées [Clément, 1994] ; [US EPA, 1999b] ; [Bailey et al., 2001] ; [Mangas-Ramírez et al., 2002] ;
- aux métaux : leur toxicité intrinsèque permet de les placer parmi les polluants qui puissent expliquer ces résultats d'écotoxicité, sur la base des concentrations mesurées et des paramètres dosés dans ces échantillons [Janssen *et al.*, 1993].

Les métaux mais également l'ammonium (en raison de la toxicité du NH3 mais également à cause des interactions qu'il peut avoir avec les polluants métalliques) peuvent donc être ciblés parmi les principaux polluants qui peuvent expliquer les effets toxiques mis en évidence pour la fraction « eau » des RUTP du Canal Bois-de-Chêne, vis-à-vis de *B. calyciflorus* pour CSP et vis-à-vis de *V. fischeri* (30 mn) et *B. calyciflorus* pour JJD, sous certaines réserves (voir paragraphe V.2 à la page 387).

Pour la fraction « particules » des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, en analysant les résultats écotoxicologiques par rapport à :

- aux métaux : leur toxicité intrinsèque et les concentrations mesurées les placent à nouveau parmi les principaux responsables potentiels de la toxicité observée. N'ayant aucune information en ce qui concerne les concentrations d'HAP présents dans ces particules, on ne peut complètement écarter leur contribution dans la toxicité observée. Mais sur la base des résultats disponibles, on peut donc penser que les métaux présents dans la fraction « particules » de ces échantillons peuvent contribuer aux effets toxiques observés vis-à-vis des deux organismes tests utilisés.

De ce fait, tout comme pour la fraction « eau », les métaux peuvent être considérés parmi les principaux polluants qui peuvent conduire à observer la toxicité mise en évidence pour la fraction « particules », des échantillons de RUTP prélevés en Haïti, vis-à-vis de *V. fischeri* et de *H. incongruens*.

Utilisation d'une approche batterie de bioessais mono-spécifiques

Une nouvelle fois, l'approche « batterie de bioessais mono-spécifiques » se révèle appropriée pour la caractérisation des effets de rejets de ce type, et la batterie simplifiée utilisée répond aux recommandations figurant dans la littérature à ce sujet.

Les résultats obtenus semblent être en accord avec les données de la littérature, en ce qui concerne la sensibilité des organismes tests utilisés :

- toujours selon Marsalek *et al.* [1999], les essais *D. magna* 48h et Microtox® (*V. fischeri*) 15mn sont relativement sensibles vis-à-vis d'échantillons de RUTP mais dans le cadre de cette étude et en ce qui concerne la fraction « eau » des échantillons du Canal Bois-de Chêne, *D. magna* est l'organisme le moins sensible de cette batterie de bioessais tandis que *V. fischeri* répond différemment selon l'échantillon testé (non sensible pour CSP mais le plus sensible pour JJD) ;
- *B. calyciflorus* 48h ressort comme un organisme sensible pour les deux échantillons et les effets observés sont presque équivalents pour ces échantillons ;

Pour la fraction « particules » également, l'approche « batterie de bioessais » se révèle à nouveau intéressante. Les commentaires émis pour l'amélioration la batterie mise en œuvre sur la fraction « particules » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge sont également de mise ici. A titre de bioessai qui puisse venir compléter cette batterie minimale, on peut recommander l'essai *B. calyciflorus* 48h sur sédiment.

Synthèse - Effets écotoxicologiques des RUTP du Canal Bois-de-Chêne

Les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne (CSP et JJD) présentent bien une toxicité intrinsèque pour les organismes tests et ceci pour les deux fractions testées (« eau » et « particules »). Cette toxicité est plus importante pour les organismes exposés à la fraction « particules » de ces échantillons.

Pour la caractérisation des effets des échantillons provenant d'Haïti (pays tropical), la batterie de bioessais utilisée n'était constituée que d'organismes utilisés dans les pays tempérés. Ceci suppose que, pour un stresseur donné, les organismes des pays tempérés et ceux des pays tropicaux présentent la même sensibilité. Ceci constitue une hypothèse forte, mais ne disposant pas d'organismes tropicaux pour réaliser cette phase de caractérisation, il a donc été choisi de la réaliser au moyen de la batterie de bioessais qui a été mise en œuvre dans le cadre de cette thèse.

Toutefois, Kwok *et al.* [2007] ont conduit une étude comparative de la sensibilité d'organismes d'eau douce de pays tropicaux et de pays tempérés au terme duquel ils ont conclu que les organismes des pays tropicaux et ceux des pays tempérés ne présentent pas la même sensibilité vis-à-vis de plusieurs classes de toxiques. Sur la base de ces conclusions, on peut donc émettre une nouvelle hypothèse qui serait la suivante : « les effets toxiques mis en évidence pour les échantillons du Canal Bois-de-Chêne pourraient être plus importants si ces rejets étaient testés vis-à-vis d'organismes tropicaux ». Cependant, à ce stade de l'étude il ne nous est permis que de faire des hypothèses car, les données de littérature disponibles ainsi que celles obtenues à la suite de nos expérimentations ne sont pas suffisantes pour approfondir cet aspect.

Par contre, sur la base des expérimentations déjà réalisées par nos soins, on peut dire que la température de réalisation des essais (plus importante en Haïti) ainsi que le mode de conservation des échantillons (par congélation) semblent affecter le niveau toxique des échantillons du Canal Bois-de-Chêne, tout au moins vis-à-vis de certains organismes (dont l'ostracode *H. incongruens*).

Il serait par conséquent nécessaire d'approfondir ces différents aspects par la suite, dans le cadre d'étude des effets écotoxicologiques d'échantillons d'Haïti.

II.3. COMPARAISON DES RESULTATS OBTENUS POUR LES DEUX SITES D'ETUDE (FRANCE ET HAÏTI)

II.3.1. Comparaison des résultats physico-chimiques et écotoxicologiques pour les deux sites

La comparaison des résultats obtenus pour les deux sites d'étude montrent que ceux-ci présentent certains points communs et différences. Les paragraphes suivants présentent quelques uns de ces points :

- parmi les différences, on peut relever : i) le contexte de chacun des sites d'étude (pays et pratiques d'assainissement, etc.) ; ii) le type et la taille des bassins-versants (péri-urbain/majoritairement urbain) ; iii) la pluviométrie ; iv) le mode de conservation des échantillons ; … ;
- parmi les similitudes, on peut noter : i) que les gammes de valeurs de pH et de concentrations en ions ammonium sont pratiquement du même ordre de grandeur ; ii) qu'ils présentent une toxicité intrinsèque pour au moins un des organismes tests utilisés pour tester la fraction « eau » et pour les deux organismes tests utilisés pour la fraction « particules » ; iii) que les métaux et l'ammonium semblent être les principaux polluants responsables des effets toxiques mis en évidence et que ces effets toxiques sont plus importants pour les organismes exposés aux « particules ».

Cependant, il faut prendre en compte le fait que la congélation a pu diminuer la toxicité des échantillons provenant du site haïtien (Canal Bois-de-Chêne) et que les échantillons provenant du site haïtien n'ont pas bénéficié d'une caractérisation physico-chimique aussi complète que celle de l'échantillon prélevé au niveau du site français (DO du Pont de la Barge). Mais ces informations sont pourtant très instructives surtout en ce qui concerne les « particules » (MES) de chacun de ces échantillons.

II.3.2. Synthèse sur l'approche de caractérisation utilisée pour les échantillons de RUTP

Le couplage « caractérisation physico-chimique/caractérisation écotoxicologique » menée en parallèle se révèle comme étant une bonne approche pouvant conduire à des informations pertinentes même si ces caractérisations sont réalisées au moyen d'une sélection de paramètres et d'une batterie de bioesssais mono-spécifiques simplifiées. Le plus important est de sélectionner soigneusement les paramètres à doser ainsi que les bioessais à mettre en œuvre, en fonction de la problématique traitée, ainsi que des contraintes, notamment techniques et économiques, qui lui sont associées.

III. APPLICATION DE LA METHODOLOGIE D'EDRECOTOX PROPOSEE ET COMPARAISON ENTRE LES RESULTATS OBTENUS PAR L'APPROCHE *A PRIORI* A CEUX OBTENUS PAR L'APPROCHE *A POSTERIORI*

III.1. RESULTATS OBTENUS SUITE A L'APPLICATION DE L'APPROCHE *A PRIORI*

L'application de la méthodologie d'EDREcotox développée selon l'approche *a priori* au scénario des deux sites d'étude (français et haïtien) a conduit à mettre en évidence des risques écotoxicologiques importants pour les organismes de la colonne d'eau et pour ceux qui vivent dans le sédiment des zones benthique et hyporhéique. Pour ces derniers, le risque est toutefois nettement plus important, ceci en raison d'une plus forte exposition (dans les secteurs critiques du cours d'eau situés à l'aval du point de déversement, il a été fait l'hypothèse que les sédiments pouvaient être constitués quasiment à 100% par les particules issues des RUTP déversés dans le milieu récepteur), et d'une plus forte concentration en polluants.

Comme toujours, dans l'évaluation des risques, les valeurs obtenues pour les indices de risque doivent être analysées avec beaucoup de prudence compte-tenu des hypothèses simplificatrices émises et des nombreuses incertitudes qui persistent.

L'essentiel de l'intérêt de l'évaluation des risques réside dans l'identification des points critiques sur lesquels on peut intervenir en priorité pour améliorer la situation.

III.1.1. Résultats obtenus pour le scénario la ville française

Les résultats obtenus suite à l'application de la méthodologie selon l'approche *a priori* conduisent à procéder aux remarques suivantes pour le scénario de la ville française :

- *le risque écotoxicologique est nettement plus important pour les organismes qui vivent dans le sédiment des zones benthique et hyporhéique que pour les organismes de la colonne d'eau. Ceci peut s'expliquer par une plus forte concentration en polluants, ainsi que par une plus forte exposition.*

  En effet, il a été considéré que les sédiments pouvaient être constitués pour l'essentiel par les particules des RUTP dans les secteurs critiques du cours d'eau, situés à l'aval du DO du Pont de la Barge.

  Cette hypothèse est très conservatoire, mais il est à noter que les conclusions ne seraient pas changées par des hypothèses avec une proportion moindre de particules issues du DO et qui se retrouveraient dans les zones benthique et hyporhéique, compte-tenu de l'indice de risque très important obtenu.

- *le risque écotoxicologique a été jugé important pour les organismes de la colonne d'eau sur la base des résultats obtenus pour les différentes approches utilisées.*

  Ce risque qui a d'abord été mis en évidence par l'approche « substances » a été confirmée par l'approche « matrice » sur la base d'une batterie importante de bioessais. Pour tempérer les niveaux de risque obtenus, il est à noter que les valeurs de $PNEC_{Eau}$ retenues (pour l'essentiel issues des recommandations de l'INERIS) permettent de protéger le cours d'eau pour une pollution chronique. Dans le cas présent, l'exposition des organismes de la colonne d'eau

serait plutôt de type « aiguë » pour les pics de pollution pris en compte dans l'évaluation. Le risque pour ces organismes serait donc *a priori* moindre mais pas forcément inexistant.

L'un des constats qui résulte de l'application de cette approche *a priori* au scénario français est d'observer la cohérence qui ressort entre : i) les hypothèses émises sur la base de l'analyse des données physico-chimiques et écotoxicologiques de l'échantillon de RUTP du DO, et ii) les résultats obtenus sur la base d'une approche « substances » pour ce même échantillon.

En effet, à l'issu de la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge, le cuivre (Cu) figurait parmi les premiers polluants qui pouvait expliquer les effets toxiques mis en évidence, en dépit du fait qu'il ne soit que le deuxième métal le plus présent dans l'échantillon brut. On constate par la suite que le calcul de l'Indice de Risque (IR) selon une approche « substances » fait également ressortir ce même métal (Cu) comme étant la substance qui permet d'estimer le risque pour ce scénario, tant pour les organismes de la colonne d'eau que pour ceux du sédiment des zones benthique et hyporhéique. Cependant, à ce stade de l'étude, il n'est pas permis de faire des généralisations concernant cette constatation car une seule observation est totalement insuffisante pour servir de base à une quelconque généralisation.

Il résulte des remarques formulées que la priorité en terme d'action à proposer aux gestionnaires de ce type d'ouvrage réside surtout dans la limitation de l'émission des particules des RUTP vers le cours d'eau et notamment les particules fines (taille des grains < 100 µm). Cette limitation peut être obtenue par des actions à la source ainsi que par l'installation d'un dispositif de rétention des particules avant le déversement des RUTP dans le cours d'eau (décanteur). Ce dispositif peut d'ailleurs être couplé avec un système de traitement des polluants dissous, tel qu'un filtre à macrophytes par exemple.

III.1.2. Résultats obtenus pour le scénario la ville haïtienne

Pour le scénario de la ville haïtienne, les remarques émises dans les paragraphes précédents pour le scénario de la ville française sont également de mises ici, pour le Canal Bois-de-Chêne. Il est nécessaire de trouver des alternatives pour limiter l'apport des particules vers le milieu récepteur et plus particulièrement, le milieu récepteur final qui est la Baie de Port-au-Prince. Ce qui nécessite une réflexion approfondie car des facteurs tels que le niveau d'urbanisation de Port-au-Prince, les fortes pentes existantes, les grands volumes générés par les pluies d'orage, … sont autant d'éléments à intégrer dans cette démarche de recherche d'alternatives appropriées. D'ailleurs, depuis les années 1980, l'étude préliminaire du réseau de drainage de Port-au-Prince faisait déjà état de phénomène d'envasement dans la Baie de Port-au-Prince, néfastes pour des écosystèmes littoraux de types mangroves à palétuviers ou de récifs coralliens [MTPTC, 1980].

Par rapport à l'application de la démarche au scénario haïtien, il faut également signaler que :

- *les résultats obtenus suite à l'application de la méthodologie selon l'approche a priori au scénario haïtien, reposent sur une caractérisation écotoxicologique réalisée sur échantillon décongelé ;*
- *les bases de données utilisées ainsi que les organismes tests ayant servi à la caractérisation des effets écotoxicologiques sont essentiellement adaptés à un contexte de pays tempérés.*

Ces deux éléments peuvent avoir conduit à une sous-estimation des indices de risque calculés, qui sont déjà importants pourtant, pour le scénario haïtien.

III.1.3. Comparaison des résultats obtenus pour les deux sites d'étude

La comparaison des résultats obtenus pour chacun des sites d'étude auxquels ont été appliqués l'approche a priori sont parvenus à la même conclusion en dépit des différences qui existent entre ces deux sites et qui ont été rappelées tout au long de cette étude. En dépit des différentes hypothèses simplificatrices émises, il est certain que l'un des éléments à traiter en priorité est la réduction des apports en MES dans les milieux récepteurs. Ce besoin est d'autant plus urgent si on se place dans le contexte du rôle important que remplit la zone hyporhéique d'un cours d'eau, qui est une voie de migration et un réservoir d'espèces [Lafont, 1989] ; [Lafont et Malard, 2001], notamment en terme de milieu de vie des organismes de ce cours d'eau mais également en raison des échanges qui se font entre le cours d'eau et la nappe sous-jacente.

La similitude des conclusions découlant de l'application de cette approche aux deux sites d'étude permet également de dire que cet outil constitue un bon moyen pour évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans les milieux récepteurs pour des *scenarii* analogues.

III.2. RESULTATS OBTENUS POUR LA RIVIERE DU SCENARIO FRANÇAIS SUITE A L'APPLICATION DE L'APPROCHE *A POSTERIORI*

III.2.1. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude

Caractéristiques physico-chimiques

Si on considère la première série de paramètres suivis (pH, conductivité, T, MES, ammonium), tout horizon et toute station confondus, et qu'on compare les mesures réalisées dans le cadre de cette étude à celles de Vivier [2006], on constate que ces dernières sont du même ordre de grandeur, à quelques exceptions près. L'explication vient probablement du fait que nos mesures concernent une seule campagne de mesures alors que celles de l'étude de Vivier portent sur plusieurs campagnes réalisées sur plusieurs années et à différentes saisons de l'année.

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des échantillons de la zone hyporhéique indiquent par ailleurs que des échantillons bruts de la station S4 présentent un caractère anoxique, notamment l'échantillon S4-H3 (O_2 dissous ≈ 0,6 mg/L). Les faibles concentrations mesurées sont

sans doute liées à la dégradation de la matière organique que renferme ces échantillons, notamment celle associée à la fraction particulaire (Perte au Feu pour S4-H3 ≈ 20%).

Pour les paramètres DCO et Perte au feu, les mesures réalisées sont cohérents et mettent en évidence une concentration importante de matière organique non-biodégradable dans les sédiments des différentes stations. Les valeurs de Perte au Feu indique que la plus grande part de la MO présente au niveau de la zone hyporhéique est associée aux particules fines de ces échantillons. Ce qui est en accord avec la littérature [Roger *et al.*, 1998] ; [Pétavy, 2007].

En ce qui concerne les métaux, ils sont souvent présents à des concentrations non négligeables dans les échantillons prélevés, notamment adsorbés sur les particules (ce qui est en accord avec la littérature) :

- les métaux dissous les plus présents sont (toutes stations et tous horizons confondus) : le Cr, le Cu, le Ni et le Zn ;
- le Pb et le Cd sont essentiellement particulaires ;
- les métaux particulaires présents sont généralement adsorbés sur les particules fines des échantillons, avec une forte prédominance du Zn particulaire, le plus souvent suivi du Pb particulaire.

Pour la granulométrie, le fait d'avoir séparé les échantillons en deux phases (Eau et Particules fines « EPF » et Sédiments grossiers « SG) permet une meilleure lecture de la distribution granulométrique de l'Echantillon Global « EG » prélevé. En couplant les données granulométriques aux résultats des métaux, on peut dire que, globalement, la grande part des métaux particulaires sont essentiellement présents dans la fraction « EPF » des échantillons (surtout pour la zone benthique) qui est majoritairement constituée de particules de taille < 100 µm. Cependant, ceci constitue une première approche qui mérite d'être approfondie car notre séparation de phase repose sur une base arbitraire qui peut probablement expliquer certains biais observés (surtout pour la zone hyporhéique).

Nous tenons à signaler qu'en ce qui concerne les analyses de métaux et les essais écotoxicologiques, la notion « SG » pour les échantillons hyporhéiques ne renvoient pas forcément à la même fourchette de taille de grains que celle de la fraction « SG » des échantillons benthiques, par rapport aux analyses granulométriques. En effet, pour la granulométrie par diffraction la notion « SG » fait référence à des grains de taille ≤ 1,6 mm alors que pour les analyses de métaux et les essais écotoxicologiques la taille est < 2 mm. De plus, de manière globale, les échantillons hyporhéiques étaient moins grossiers que les échantillons benthiques, i.e. que les échantillons benthiques contenaient une quantité négligeable de grains de taille comprise entre 1, 6 mm et 2 mm.

En résumé, il ressort de cette phase de caractérisation des échantillons des trois stations d'étude sur la rivière Chaudanne que : i) les polluants métalliques dosés sont pratiquement tous présents dans les échantillons prélevés à des concentrations non négligeables ; ii) la distribution des plus fortes concentrations des métaux entre les zones benthique et hyporhéique est fonction du métal et de la station d'étude ; iii) d'un point de vue global et à quelques exceptions près, les échantillons de la station S2 (station en amont du DO) semble présenter les concentrations métalliques les moins importantes (par rapport à celles des deux stations en aval du DO) ; iv) les polluants métalliques

particulaires pourraient être majoritairement associés aux particules de taille < 100 µm ; v) que les RUTP déversés à répétition par le DO du Pont de la Barge peuvent avoir contribué au fait que les échantillons des stations S3 et S4 contiennent, globalement, plus de polluants métalliques.

Par conséquent : i) les échantillons des stations d'étude sur la rivière Chaudanne sont potentiellement toxiques pour les organismes du milieu récepteur en raison de la charge métallique qu'ils contiennent, notamment en ce qui concerne leur fraction particulaire ; ii) les échantillons de la station S2 pourrait présenter une toxicité moins importante que celle des échantillons des stations S3 et S4 qui sont impactés.

Effets toxiques mis en évidence

Au terme de la caractérisation écotoxicologique des échantillons des trois stations d'étude (S2, S3 et S4) sur la rivière Chaudanne, des effets toxiques ont été mis en évidence pour ces échantillons. Ces effets toxiques sont globalement plus importants pour les échantillons des stations en aval du point de déversement des RUTP (S3 et S4) que pour la station S2, notamment en ce qui concerne les zones benthique et surtout hyporhéique. Ce qui permet de confirmer les principales hypothèses découlant de la caractérisation physico-chimique de cet échantillon. En effet, les résultats physico-chimiques avait permis de mettre en évidence un risque potentiel d'effets toxiques, liés à la présence des métaux ; éventuellement couplé à un problème d' O_2 dissous en ce qui concerne l'échantillon S4-H3 au niveau de la station S4.

En analysant les résultats écotoxicologiques par rapport à :

- la concentration en O_2 dissous initial de l'échantillon : la contribution d'une faible concentration en O_2 dissous à la mise en évidence d'effet toxique n'a pas réellement été suivi au cours des expérimentations réalisées. Cependant, un suivi de la concentration en O_2 dissous a été réalisé dans le cadre de l'essai *H. incongruens* et une baisse relativement significative de l'O_2 dissous ne se traduisait pas forcément par une mortalité plus importante chez cet organisme, par exemple. Néanmoins, ces premiers résultats méritent d'être approfondis au moyen d'autres expérimentations plus spécifiques ;
- aux métaux : ils peuvent être toxiques aux concentrations mesurées dans les échantillons des stations d'étude sur la rivière Chaudanne [Janssen *et al.*, 1993] ; [Radix *et al.*, 2000] ; [Van Sprang Patrick et Janssen, 2001] ; [Christensen *et al.*, 2006] ; [Trépanier, 2005] ; [Durrieu *et al.*, 2007]. Par conséquent, on peut déduire que les métaux semblent jouer un rôle prépondérant dans les effets toxiques mis en évidence vis-à-vis de Cdu.

Les métaux peuvent donc être considérés parmi les principaux polluants qui ont contribué aux effets toxiques mis en évidence pour les échantillons des stations d'étude, et en ce qui concerne particulièrement les fractions « EPF » des stations S3 et S4, sous réserve de la recommandation formulée en ce qui concerne la concentration en O_2 dissous et de la vérification ultérieure des concentrations en nutriments dans ces échantillons. Il faut rajouter à cela les effets non pris en compte dans le cadre de cette étude (voir paragraphe V.2 à la page 387).

Utilisation d'une approche batterie de bioessais mono-spécifiques

Pour l'approche *a posteriori*, la caractérisation écotoxicologique des échantillons au moyen d'une « batterie de bioessais mono-spécifiques » se révèle adaptée par rapport aux objectifs. Elle a été élaborée en conformité avec les recommandations figurant dans la littérature pour la constitution d'une batterie de bioessais.

Les choix en ce qui concerne les organismes retenus se sont révélés judicieux. Cependant, on constate que l'essai *D. magna* s'est révélée le moins sensible de cette batterie de bioessais. Etant un test normalisé, dans la mesure où il serait nécessaire de la remplacer, nous préconisons l'utilisation de l'essai *C. dubia* aiguë à sa place, afin de disposer d'au moins deux essais aigus dans cette batterie. Ces essais deux essais sont de mise en œuvre rapide et permettent d'avoir un premier retour rapide du caractère toxique des échantillons prélevés.

L'autre essai qui s'est également révélé moins sensible de cette batterie de bioessais est le Microtox® Solid Phase Test (SPT) réalisé sur les sédiments grossiers. L'origine de cette constatation peut être due au fait que la majeure partie de la pollution était plus associée aux particules fines de ces échantillons et non aux sédiments grossiers ou du fait que cet essai nécessite une adaptation de protocole. De ce fait, on peut le classer parmi les essais qui ne soit pas forcément obligatoire à mettre en œuvre, surtout qu'il nécessite des dispositions particulière pour la bonne conduite de l'essai.

En ce qui concerne l'essai *H. incongruens*, il s'est révélé adapté par rapport aux objectifs visés : mettre en évidence la toxicité de la phase solide des sédiments prélevés. Cependant, on a opéré des ajustements de protocole pour la mise en œuvre de cet essai. D'autres auteurs dans la littérature ont relaté l'intérêt de réaliser cet essai sur la base d'une gamme de dilutions [Oleszczuk, 2008], mais il faut tenir compte du fait qu'on aboutit à un essai globalement lourd de mise en œuvre, surtout si on est face à de nombreux échantillons.

III.2.2. Comparaison aux données existantes issues d'études antérieures réalisées sur la rivière Chaudanne

Le bassin-versant de la Chaudanne ainsi que la rivière Chaudanne sont le lieu d'étude de plusieurs équipes pluri-disciplinaires de huit établissements lyonnais, entre autres, qui en ont fait un site expérimental : CEMAGREF de Lyon, OTHU, LSE de l'ENTPE, Université Lyon 1, Université Lyon 2, INSA de Lyon, BRGM, Ecole Centrale de Lyon. En ce sens, ce site a fait l'objet et continue de faire l'objet d'études portant sur la problématique de la pollution, par des RUTP, de la rivière Chaudanne qui se trouve dans un contexte de bassin-versant péri-urbain. Parmi les travaux déjà réalisés on retrouve notamment ceux conduits dans le cadre de programme de recherche du CEMAGREF de Lyon (Lafont M., Bernoud S., Nogueira S., Vivier A., etc. : [Bernoud, 1998] ; [Lafont, 2001] ; [Nogueira, 2001] ; [Lafont *et al.*, 2006] ; [Vivier, 2006] ; etc.), et qui ont porté sur la problématique de l'impact des RUTP sur ce cours d'eau. Cependant, ces études ont approché la question des effets des RUTP dans les petites rivières péri-urbaines suivant une approche principalement écologique (incluant des phases de terrain et des phases en laboratoire), associée à un suivi, non systématique, de certains paramètres physico-chimiques (métaux, azote, phospore, …).

L'une des approches principales qui a été utilisée est celle reposant sur le concept « d'ambiance écologique » (« concept *EASY* : *Ecological Ambiance System* »), développé par Lafont [2001]. Ce concept se fonde sur le principe que les biocénoses sont liées aux apports de substances particulaires et dissoutes et à la capacité de défense du milieu. Ce qui a conduit à développer des Unités Fonctionnelles (UF, définies sur la base d'une classification empirique) et des Traits Fonctionnels (TRF, traits regroupant les informations communes qu'apportent plusieurs espèces, et permettant de caractériser un état écologique fonctionnel [Lafont *et al.*, 2001]) qui associent les différents facteurs physique, chimique et biologique intervenant dans le fonctionnement d'une rivière (hydro-géomorphologie, apports en substances nutritives, apports en polluants, type de substrats, …).

Ces travaux ont conduit a définir plusieurs traits fonctionnels, mais nous allons en présenter quatre de ces derniers TRF1, TRF2, TRF3 et TRF4, qui sont associés aux trois stations qui ont fait l'objet de notre étude d'EDREcotox sur la base de l'approche *a posteriori*. Pour se faire, nous nous reposerons sur l'une des dernières études conduite sur la rivière Chaudanne et qui a été réalisée par Vivier [2006].

Globalement, TRF1 décrit des propriétés physiques du milieu ; TRF2 et TRF3 décrivent des propriétés chimiques et trophiques ; le TRF4 qui est mixte, décrit l'association de propriétés physiques (présence de boues) et chimiques (boues polluées, toxicité) [Vivier, 2006]. Ci-dessous est repris un extrait des traits fonctionnels des sédiments grossiers de surface et du milieu hyporhéique de la Chaudanne [Lafont *et al.*, 2006] :

- TRF1 : « Perméabilité » ; il repose sur le % d'espèces d'oligochètes qui décrivent l'existence d'échanges hydrologiques actifs entre les eaux superficielles et souterraines ;
- TRF2 : « Sensibilité à la pollution » ; il repose sur le % d'espèces d'oligochètes intolérantes à la pollution des eaux ;
- TRF3 : « Résistance à la pollution » ; il repose sur le % d'espèces d'oligochètes tolérantes à la pollution des eaux ;
- TRF4 : « Effet boues polluées » ; il repose sur le% d'espèces d'oligochètes indiquant la présence de boues polluées dans les interstices sédimentaires.

Les différentes études réalisées sur cette rivière, dont celle de Vivier [2006], ont validé l'existence de ces traits fonctionnels au niveau de la rivière Chaudanne. Leur distribution le long de cette rivière et en fonction des stations d'étude est la suivante :

- Station 2 : prédominance de TRF1 et TRF2 et apparition de TRF3 en de rares occasions ;
- Station 3 : prédominance TRF3 et apparition de TRF1, TRF2 et TRF4 qui sont en liaison avec les déversements de RUTP du DO (débit, intervalle de déversement, durée, …) et les conditions hydrauliques de la rivière Chaudanne (hautes eaux, étiages) ;
- Station 4 : TRF4 essentiellement.

Vivier [2006] préconisait également la conduite d'essais écotoxicologiques en vue de tenter de faire ressortir de « l'effet boue » (induisant une faible disponibilité d'O_2 dissous) la contribution des

polluants (métaux et matière azotées réduites) présents dans les sédiments des zones concernées aux effets observés surtout en ce qui concerne la station 4.

Les résultats de cette étude permettent d'apporter de nouveaux éléments d'information par rapport aux principales conclusions de l'étude de Vivier [2006]. En effet, les conclusions dégagées dans la présente étude sont globalement en accord avec celles de Vivier, car :

- Station 2 : on est parvenu à la conclusion que la station S2 est pratiquement la moins polluée des trois stations d'étude sur le plan physico-chimique et qu'elle ne provoque pas d'effets écotoxicologiques vis-à-vis des organismes tests utilisés dans les limites des concentrations maximales testées ;
- Station 3 : qui est en aval direct du DO du Pont de la Barge est globalement plus polluée que la station S2 du point de vue physico-chimique et écotoxicologique. La zone hyporhéique de cette station est la plus concernée par ces problèmes d'impacts qui semblent être en liaison avec l'infiltration, suivant des conditions spécifiques (hydraulique, géomorphologique), des polluants issus des RUTP déversés à répétition par le DO ;
- Station 4 : qui est la plus en aval du DO, constitue la station la plus polluée des trois stations d'étude aussi bien par rapport à la station S2 que par rapport à la station S3, tant sur le plan physico-chimique qu'écotoxicologique. La zone hyporhéique de cette station est la plus impactée et la plus contaminée de ces trois stations, même dans des conditions où l'O_2 dissous ne constitue pas un facteur limitant. Le DO semble jouer un rôle prédominant dans l'apport de ces polluants qui sont stockés en raison de conditions hydro-géomorphologiques favorables (rupture de pente) suite à leur infiltration dans la zone hyporhéique.

Vivier [2006] souligne que « *la station 3, directement impactée par le DO, voit le TRF3 prédominer, et que la perméabilité des sédiments et les échanges hydrauliques entre les eaux et hyporhéiques restent actifs* », que les sédiments grossiers superficiels au niveau de cette station sont plus réactifs aux paramètres hydrauliques que le milieu hyporhéique. Ce qui fait que certaines fois, la station 3 bénéficie d'action mécanique de nettoyage par les forts débits de la rivière Chaudanne, mais aussi paradoxalement, du DO du Pont de la Barge.

Ce qui permet de conclure que le DO contribue à la charge polluante rencontrée dans les échantillons benthiques et hyporhéiques de la station 3.

Pour la station 4, Vivier [2006] souligne qu'elle est très impactée par les rejets du DO et que les caractéristiques géomorphologiques de cette station favorisent l'infiltration et le stockage des polluants, augmentant ainsi la probabilité de contact entre les biocénoses et les polluants.

Une fois de plus, cela permet d'identifier le DO du Pont de la Barge comme étant le principal responsable de la charge polluante rencontrées au niveau de cette station et que la pollution de la zone hyporhéique résulte de l'infiltration des polluants déversés par le DO, facilitée entre autres par la rupture de pente rencontrée au niveau de cette station.

Synthèse

En résumé, on peut conclure que l'approche *a posteriori* élaborée dans le cadre de cette thèse a permis, en dépit des hypothèses simplificatrices émises et des incertitudes qui lui sont associées, d'identifier les points critiques impactés par les RUTP déversés dans cette rivière. Le développement de cet outil, en y intégrant d'autres facteurs clés, facilitera son application à d'autres *scenarii* faisant l'objet de cette même problématique de déversement de RUTP dans les cours d'eau.

III.3. COMPARAISON ENTRE LES RESULTATS OBTENUS POUR LE SCENARIO FRANÇAIS SUR LA BASE DES APPROCHES *A PRIORI* ET *A POSTERIORI* AVEC LES RESULTATS ISSUS D'ETUDES ANTERIEURES

La comparaison entre les résultats obtenus pour le site français sur la base des deux approches méthodologiques élaborées, d'une part, et les résultats issus d'études antérieures conduites sur ce même cours d'eau permet de conclure à un caractère cohérent pour l'ensemble de ces résultats pour ce site d'étude. En effet, les principales conclusions tirées pour ce même site d'étude sont :

- sur la base de l'approche *a priori* : mise en évidence d'un risque important pour les organismes du sédiment des zones benthiques et hyporhéique de la partie du cours d'eau se situant en aval du DO du Pont de la Barge ;
- sur la base de l'approche *a posteriori* : mise en évidence d'un risque important pour les organismes du sédiment des zones benthique et hyporhéique des stations S3 et S4 se situant en aval du DO du Pont de la Barge et qui sont exposées au déversement des RUTP issus de ce DO. Le risque étant plus important pour les organismes de la zone benthique et nettement plus inquiétant pour les organismes de la zone hyporhéique de la station S4 ;
- l'étude de Vivier [2006] : la station S4 est la station la plus altérée et à réhabiliter en priorité, en particulier son milieu hyporhéique.

On constate donc, que l'approche *a priori* a permis de mettre en évidence la situation de risque et que l'approche *a posteriori* a permis d'affiner les conclusions tirées à partir de l'approche *a priori* en ciblant les zones les plus à risque au niveau de ce cours d'eau. Chacune de ces deux approches est donc parvenue à la même conclusion que l'étude menée par Vivier [2006] qui a utilisé des techniques différentes de celles employées pour élaborer les approches méthodologiques d'EDREcotox proposées dans le cadre de cette thèse.

Au final, l'approche *a priori*, dont l'intérêt principal réside dans la possibilité d'être mise en œuvre avant la création d'un nouveau DO ou avant l'aménagement d'un DO existant, a été plutôt bien validée.

IV. METHODOLOGIE D'EDRECOTOX PROPOSEE : APPROCHE *A PRIORI* - APPROCHE *A POSTERIORI*

L'objectif principal de cette thèse était de proposer une méthodologie générale d'EDREcotox liés au déversement de RUTP dans un milieu récepteur lotique. Cette dernière a été développée selon deux approches : une approche *a priori* qui peut être utilisée dans le cas d'un déversement existant et dans le cas d'un projet d'installation d'une infrastructure de drainage se déversant dans un cours d'eau ; la seconde approche dite *a posteriori* a été développée dans un contexte existant bien précis mais elle peut également s'appliquer à toute situation existante du même genre.

Pour atteindre cet objectif général, on a fait le choix d'adopter des stratégies simples mais rigoureuses en vue de proposée une première version de cette méthodologie, avec la possibilité d'approfondir ultérieurement, au moyen d'autres programmes de recherche, les différents aspects qui n'auraient pas été pris en compte dans le cadre de cette thèse.

IV.1. EDRECOTOX - APPROCHE *A PRIORI*

IV.1.1. Formulation du problème

Le scénario d'étude porte sur un bassin-versant mais la tâche d'inventorier les différentes activités génératrice de pollution à l'échelle de ce bassin-versant n'était pas inclue dans ce travail. C'est une activité qui peut être menée indépendamment de la conception et de l'application de cette méthodologie. Cependant, les informations qu'une telle activité va générer seront essentielles par la suite en ce qui concerne les dispositions à prendre pour gérer le risque qui pourrait être mis en évidence.

La méthodologie proposée a été développée indépendamment des contraintes inhérentes au site d'étude à laquelle elle serait appliquée, ce qui facilite l'utilisation que le gestionnaire pourrait en faire. L'essentiel est de bien cadrer la problématique à laquelle on souhaite l'appliquer et de prendre en compte les paramètres essentiels de cette problématique.

Cette méthodologie prend en compte les différents compartiments du cours d'eau (colonne d'eau et les compartiments benthique et hyporhéique) puisque chacun d'eux fonctionne selon une dynamique différente. Cependant, il reste encore des facettes à approfondir pour chacun de ces compartiments, notamment en ce qui concerne les phases « analyse » et « caractérisation du risque » de cette méthodologie.

En ce qui concerne les différents choix effectués (les périodes de réalisation des campagnes de prélèvement, la fraction de RUTP prélevée par rapport à la durée de la pluie, les méthodes utilisées pour la préparation des échantillons, les filtrats testés, …), d'autres variantes peuvent également être explorées sur la base des premiers résultats découlant de l'application de cette approche *a priori*.

IV.1.2. Phase d'analyse

Caractérisation de l'exposition

Les remarques suivantes portent essentiellement sur deux éléments de cette étape de caractérisation de l'exposition : le premier concerne l'approche utilisé pour définir les caractéristiques physico-chimiques du rejet et, le second, les voies d'exposition considérées pour les organismes qui seront exposés à ce rejet.

Pour connaître les principales caractéristiques des RUTP concernés, la réalisation d'analyses physico-chimiques constitue une démarche adéquate. Mais dans la mesure où des jeux de données suffisantes et fiables sont disponibles pour le scénario étudié, elle peut ne pas être réalisée ou du moins se focaliser sur des paramètres clés de pollution associés au scénario étudié. Cependant, si l'option d'utiliser les données existantes est retenue, elle ne permettra pas d'utiliser toutes les approches figurant dans le plan d'analyse proposé dans la partie « Matériels et Méthodes » de ce document.

En ce qui concerne l'exposition des organismes, seule l'approche d'une exposition directe des organismes a été retenue et cette exposition (PEC) a été estimée sur la base d'une approche théorique : i) calcul de dilutions, pour les organismes de la colonne d'eau ; ii) existence de zones préférentielles de décantation des MES du rejet, pour les organismes des compartiments benthique et hyporhéique. Cette approche théorique est certes une approche basique d'estimation de l'exposition mais elle peut toutefois être adaptée en vue de prendre en compte la dynamique des polluants dans le cours d'eau mais également en fonction de la dynamique du cours d'eau lui même.

Caractérisation des effets écotoxicologiques

L'option d'utiliser plusieurs approches pour caractériser les effets écotoxicologiques du rejet étudié peut être qualifiée de pertinente. En effet, ce travail de thèse constitue un premier pas dans la perspective de l'élaboration d'une méthodologie plus élaborée pour le scénario de déversement de RUTP dans les cours d'eau. Cependant, on ne s'est limité qu'à trois des quatre approches de caractérisations des effets existantes car la quatrième approche, l'approche « essais pluri-spécifiques » est plus lourde en terme de temps, d'activités préparatoires, de ressources (humaines, financières, …) et moins évidente à agencer en parallèle avec d'autres activités (étude effets combinés, plusieurs essais mono-spécifiques, étude menée sur deux sites d'étude, …) surtout dans le contexte d'une thèse réalisée sur la base de période d'alternance fixe entre les deux pays concernés.

Toutefois, un premier travail, en terme d'étude en laboratoire des effets de RUTP sur des communautés périphytiques (essai pluri-spécifiques) a déjà été réalisée par Parent-Raoult [2004] en vue de prendre en compte les effets de ce type de rejet sur des niveaux d'organisation supérieurs. L'association des informations issues de ces deux thèses peuvent donc déjà contribuer à mieux approfondir les connaissances sur cette problématique qui est, somme toute, assez complexe.

Outre ce besoin de développement de la l'EDREcotox *a priori* en vue d'intégrer l'approche de caractérisation des effets écotoxicologiques au moyen de « bioessais pluri-spécifiques », il faut

également considérer le besoin portant sur le développement de l'approche « substances avec effet combinés » pour la fraction « particules » de ces RUTP. En effet, dans le cadre de cette étude, elle n'a pas été intégrée à la méthodologie proposée, mais il reste important d'approfondir les recherches dans ce secteur car les impacts de ces particules sur les organismes benthique et hyporhéique peuvent leur être préjudiciables en raison de la toxicité intrinsèque de ces particules ; cette toxicité peut bien être fonction des effets combinés des polluants présents dans cette matrice particulaire.

IV.1.3. Caractérisation du risque

Etant dans le contexte de l'élaboration d'une première démarche méthodologique permettant d'estimer les risques pour le scénario étudié, il nous a donc paru adéquat d'utiliser la méthode la plus simple pour procéder à cette estimation. En ce sens, la méthode du quotient (PEC/PNEC) remplit bien cette fonction et elle est d'ailleurs l'une des méthodes d'estimation du risque les plus utilisées [Suter II, 2006].

IV.2. EDRECOTOX - APPROCHE *A POSTERIORI*

IV.2.1. Différents horizons étudiés et points de prélèvement

Ce choix constitue une bonne approche pour cerner le problème car il permet de détecter les points et les horizons les plus fragiles sur lesquels il faut intervenir en priorité et qu'il faut suivre dans le temps, dans le cadre d'un processus de suivi de la restauration du milieu récepteur étudié comparativement aux mesures qui seront prises en amont pour limiter les apports en polluants ce milieu.

En ce sens, il revient de bien les choisir au départ et de fixer soigneusement les descripteurs qui permettront d'apprécier l'état global du milieu, tout comme cela est fait dans le cadre de l'approche écologique qui a été utilisée dans les études antérieures.

IV.2.2. Caractérisation physico-chimique des échantillons

Cette phase est primordiale pour essayer de comprendre les effets toxiques qui seront mis en évidence au cours de la phase de caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés. Il est recommandé de procéder à une sélection minimale de paramètres à doser et de conduire cette caractérisation physico-chimique en parallèle avec la caractérisation écotoxicologique des échantillons.

IV.2.3. Caractérisation écotoxicologiques des échantillons

En vue de mieux cerner les caractéristiques écotoxicologiques des échantillons, nous recommandons l'utilisation d'une batterie minimale d'essais. Dans le cas où on serait en présence d'un nombre important d'échantillons, cette batterie de bioessais pourrait être mise en œuvre de la manière suivante : procéder, dans un premier temps, à une caractérisation préliminaire au moyen d'un essai de toxicité aiguë qui permettra de réaliser à une première classification des échantillons ; dans un

second, mettre en œuvre les autres essais retenus en priorisant les échantillons qui se seraient révélés toxiques au cours de la phase préliminaire de caractérisation.

Cependant, l'absence de mise en évidence d'effets toxiques ne signifie pas obligatoirement qu'il n'existe pas de problèmes d'impacts au niveau du milieu récepteur concernés. Car, il faut se rappeler que l'approche par « batterie de bioessais mono-spécifiques » ne permet pas de prendre en compte un certains nombres d'effets (voir paragraphe V.2 à la page 387).

IV.2.4. Caractérisation du risque

La technique de comparaison entre un étant « amont » et un état « aval » pour caractériser le risque semble être une technique adéquate pour le scénario étudié. L'un des éléments importants de cette technique réside dans le choix de la référence « amont » qui doit être effectué avec soin.

L'autre élément qui ressort également dans le cadre de l'utilisation de cette approche, c'est qu'il est nécessaire d'avoir un bon niveau de connaissance en ce qui concerne la zone d'étude et de la rivière concernée, en termes : de dynamique de débit de la rivière, de dynamique de déversement des RUTP, des principales caractéristiques physico-chimiques et écotoxicologiques des RUTP déversés, des caractéristiques physico-chimiques et écotoxicologiques des compartiments de la rivière, de granulométrie des sédiments, de géomorphologie, … car c'est l'intégration de l'ensemble de ces données qui favorisera leur interprétation adéquate.

IV.3. EDRECOTOX : APPROCHE *A PRIORI* VS APPROCHE *A POSTERIORI*

La conduite de ces deux approches en parallèle a été très instructive dans le sens où certains aspects soulignés dans l'approche a priori ont été pris en compte dans l'approche a posteriori. Ce qui permet déjà d'avoir un retour sur leur faisabilité en terme de mise en œuvre et des contraintes qui leur sont associées.

Nous pensons, notamment, à la réalisation de l'essai *H. incongruens* qui peut s'avérer très lourd, selon le nombre d'échantillons à tester. Il faut donc en tenir compte afin d'harmoniser cet essai avec les autres qui constituent la batterie de bioessais retenue. Cependant, il demeure un bioessai tout à fait adapté et sa réalisation aboutit à la production de données intéressantes et surtout en raison du fait qu'il constitue un essai qui favorise la mise en contact avec la phase solide des échantillons de sédiment.

V. LIMITES DE CETTE ETUDE

V.1. LIMITES PAR RAPPORT A L'ETUDE DE L'ECOTOXICITE ET DES EFFETS COMBINES DES POLLUANTS PRESENTS DANS LES RUTP

V.1.1. Limites portant sur le test algue Ps

Deux éléments portant sur le test algue Ps peuvent être intégrés dans les limites de cette étude sur les polluants présents dans les RUTP. Le premier porte sur le nitrate apporté par les sels métalliques testés dans les milieux d'essai et le second concerne les phénomènes d'hormèse mis en évidence pour certains sels métalliques ou pour quelques ratios de certains mélanges binaires. Il s'agit de deux éléments distinctifs, certes, mais qui peuvent également présenter certains liens.

Dans le cadre de cette étude, la présence du nitrate contenu dans les sels métalliques et de ce fait apporté dans les milieux d'essai contenant les métaux n'a pas été spécifiquement pris en compte. L'un des moyens d'en tenir compte aurait été de réaliser en parallèle un témoin auquel on aurait rajouté une proportion de nitrate équivalente à celui présent dans les milieux d'essai contenant le métal ou le mélange de métal à tester. Le nitrate constituant un nutriment pour les algues, il se pourrait que certains effets toxiques soit masqués par cet apport de nutriment.

Le second point concerne les effets d'hormèse qui ont été observés pour certains sels métalliques ou pour des ratios de certains mélanges binaires. En effet, de tels phénomènes ont été observés et on a choisi de ne pas les intégrer dans les autres calculs réalisés dans le cadre de cette étude. Ces phénomènes d'hormèse pourraient être liés aux apports en nutriment constitués par le nitrate contenu dans les sels testés, tout comme ces phénomènes peuvent être indépendants de cet apport en nitrate. Le fait que ces phénomènes n'ont pas été systématiquement observés ne permettent pas de trancher sur les conditions qui auraient donné lieu à ces phénomènes.

Cependant, il serait nécessaire d'approfondir les questionnements sur ces observations soit en réalisant des essais dans des conditions spécifiques permettant de cerner la question, soit en faisant appel à des logiciels de calcul (REGTOX, …) permettant de prendre en compte ce phénomène.

V.1.2. Limites portant sur la non prise en compte de la composante biologique dans les calculs de spéciation

L'étude de l'interaction entre les contaminants et les barrières biologiques est d'un intérêt considérable pour la compréhension des phénomènes écotoxicologiques. Il est bien connu que les niveaux de concentrations métalliques dans les organismes ne sont pas le seul résultat de leur biodisponibilité dans l'environnement. Les processus impliqués sont très complexes et sont influencés par le contaminant (taille molécule, spéciation chimique, etc.), l'organisme récepteur (propriétés membranaires, composition chimique, processus actifs), et l'environnement intra et extracellulaire (température, pH, etc.), … [Casas, 2005].

Dans le cadre de cette étude les interactions entre l'élément concerné (métal ou ammonium)/organisme test (daphnie ou algue Ps) n'ont pas été pris en compte dans les calculs de

spéciations. Les essais ont été réalisés dans des conditions contrôlées (température, luminosité, pH, etc.) mais ces conditions expérimentales ne suffisent pas pour comprendre la complexité des phénomènes en jeu et notamment ceux concernant les ligands biotiques.

Chez les poissons, les branchies ont été identifiées comme étant l'élément jouant ce rôle de ligand biotique. En ce qui concerne les invertébrés, et en particulier les daphnies (*Daphnia sp.*), des travaux complémentaires sur les mécanismes de toxicité physiologique aiguë seraient à mener. Actuellement, dans la plupart des travaux visant à la mise au point de modèles pour les invertébrés, des extrapolations sont réalisées à partir des connaissances disponibles sur les poissons [De Schamphelaere et Janssen, 2002]. Pour les algues, Crist *et al.* [1988] ont montré que les membranes cellulaires des algues présentent une série continue de différents sites de fixation pour les métaux (ou les protons). De plus, Campbell [1995] a fait l'hypothèse que les métaux se complexent rapidement avec ces cellules et qu'ils sont ensuite transportés, plus lentement, à l'intérieur de celles-ci où ils provoquent un effet toxique. La première réaction ayant, par hypothèse, la cinétique la plus courte, un équilibre avec le milieu est alors atteint. Les membranes constituant les parois cellulaires sont donc considérées comme étant les ligands biotiques des algues [INERIS, 2004].

Pour prendre en compte ces aspects certains modèles dits « Biotic Ligand Model (BLM) » ont été développés. L'INERIS [2004] a rédigé un rapport technique sur ces modèles qui souligne au moins 2 points très importants :

- les BLM présentent l'avantage d'apporter une méthode de prise en compte des phénomènes de biodisponibilité des métaux mais, étant donné qu'ils sont plutôt récents, ils sont encore en cours d'élaboration pour certains modèles et nécessitent des étapes de validation supplémentaires pour d'autres modèles.
- les incertitudes sur les résultats sont encore très importantes et de nombreuses hypothèses n'ont pas encore été validées.

Cependant, l'une des alternatives pour prendre en compte la composante biologique pour les essais mis en œuvre dans le cadre de cette étude serait d'utiliser des modèles de BLM. Néanmoins, il faut bien tenir compte des limites de ces modèles tout en se rappelant que l'INERIS [2004] souligne qu'il est indispensable de bien cerner le domaine d'utilisation des modèles développés compte tenu du peu de validation de leur applicabilité à différentes espèces, différents stades de développement et milieux aquatiques.

V.2. LIMITES PORTANT SUR LA CARACTERISATION DES ECHANTILLONS ET SUR LES METHODOLOGIES D'EDRECOTOX *A PRIORI* ET *A POSTERIORI* PROPOSEES

V.2.1. Effets non pris en compte

Tout comme cela a été signalé dans les limites portant sur l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés des polluants présents dans les RUTP, il y a également certaines interactions qui ne sont pas prise en compte dans les phases d'élaboration et d'application des approches méthodologiques proposées pour évaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau.

En effet, en ce qui concerne les deux approches méthodologiques élaborées (*a priori* et *a posteriori*), les différentes interactions physiques, biologiques et chimiques qui peuvent exister entre les différents constituants présents dans les échantillons de RUTP utilisés ou par rapport aux conditions existant au niveau du milieu récepteur n'ont pas été prises en compte. De même, les phénomènes de transformation, d'eutrophisation, de bioaccumulation, la spéciation chimique, la biodisponibilité ainsi que les effets génotoxiques des constituants, etc., n'ont pas également été considérés.

Pour les résultats portant sur les échantillons d'Haïti, l'aspect sensibilité des organismes tropicaux par rapport à ceux des pays tempérés n'a pas été intégré dans les calculs réalisés. Or, selon Kwok *et al.* [2007], les organismes des pays tropicaux semblent être plus sensibles que les organismes des pays tempérés, par rapport à certains polluants (certains métaux, par exemple). La prise en compte de cet aspect couplé à une caractérisation complète de l'échantillon pourrait éventuellement conduire à mettre en évidence un risque plus important pour les organismes du scénario haïtien.

Chacun de ces éléments non pris en compte constitue un facteur qui peut aider à affiner chacune des approches (*a priori* et *a posteriori*) de la méthodologie générale proposée.

V.3. INCERTITUDES LIEES AUX RESULTATS OBTENUS

V.3.1. Incertitudes associées à la caractérisation de l'exposition des organismes

La phase caractérisation de l'exposition pour les organismes de la colonne d'eau n'a été réalisée qu'au moyen du calcul des dilutions qui est la méthode la plus simple pour procéder à l'estimation de l'exposition. Or, les phénomènes qui sont en jeu dans le milieu récepteur sont bien plus complexes que cette dilution. De même, pour les organismes du sédiment, la seule hypothèse testée est celle d'une exposition à la totalité des particules contenues dans les RUTP déversés ; ce qui n'est pas le cas sur tout le parcours du cours d'eau.

L'autre élément qui n'est pas complètement cerné dans le cadre de cette étude est l'aspect variabilité des RUTP et celle associée au cours d'eau récepteur. En effet, dans la phase de caractérisation de l'exposition nous avons considéré les débits moyens pour les RUTP auxquels ont été associés les caractéristiques physico-chimiques déterminées. De même, pour le cours d'eau, on n'a pas tenu compte des variations de débit incombant à d'autres apports dans le milieu récepteur. Par conséquent, ces résultats sont donc à prendre avec précaution.

Il est donc nécessaire d'intégrer par la suite d'autres éléments permettant de se rapprocher de la situation de terrain en vue d'affiner cette étape de caractérisation de l'exposition qui est importante dans tout processus d'EDRE.

V.3.2. Incertitudes associées à la caractérisation des effets écotoxicologiques pour les organismes du cours d'eau récepteur

Les approches « substances » et « substances avec effets combinés » reposent grandement sur des données de littérature se trouvant dans les Bases de Données Internationales (BDI) pour trouver les valeurs de PNEC. Quand ces dernières sont inexistantes les options disponibles sont de les extrapoler au moyen d'autres techniques (nécessitant certaines données de base) ou ne pas tenir compte de ces éléments dans la suite du processus d'EDREcotox. Or, la défnition des valeurs de PNEC est un domaine dynamique qui évolue en fonction de certains éléments dont le nombre de données disponibles sur la substance concernée. Il est donc permis d'ajouter ces probabilités de mise à jour des fiches des substances au titre des incertitudes qui sont associées à cette phase de caractérisation des effets écotoxicologiques pour ces deux approches.

V.3.3. Incertitudes associées à la caractérisation du risque pour les organismes du cours d'eau récepteur

Approche « substances »

La caractérisation du risque sur la base d'une approche « substances » repose sur le principe de ne considérer que la substance présentant l'Indice de Risque (IR) le plus important pour estimer le risque pour le scénario. Hors, comme on l'a signalé dans le paragraphe traitant des incertitudes associées à la caractérisation des effets écotoxicologiques, il a fallu procéder à une sélection de paramètres, pour constituer la liste des traceurs de risque. L'amélioration de la caractérisation du risque est donc liée au développement futur de l'étape de caractérisation des effets selon une approche « substances », en d'autre terme, le processus de définition de valeurs de PNEC pour les paramètres concernés.

Approche « substances avec effets combinés »

Dans le cas des mélanges de polluants, certains auteurs, dont Rivière [1998] et l'INERIS [2003a], suggèrent d'additionner les quotients et de considérer qu'il y a risque quand la somme est supérieure 1. Cette recommandation n'a pas été appliquée lors des processus d'évaluation des risques selon l'approche « substances avec effets combinés » pour les deux sites d'étude, en raison de la mise en évidence d'effets de synergie et d'antagonisme au cours de l'étude préalable des effets combinés qui a été réalisée.

De plus, il a été observé que les types d'effets combinés mis en évidence étaient fonction de l'organisme test utilisé et que la spéciation des éléments en mélange doit être pris en compte dans le cadre de telles études. Ces raisons nous ont poussé à ne pas appliquer cette recommandation, en l'état actuel des connaissances sur les effets toxiques observés pour les mélanges binaires étudiés.

Néanmoins, d'autres auteurs prônent également la nécessité d'une réelle prise en compte de ces phénomènes dans le cadre de la définition des valeurs seuils pour les polluants dans un contexte de protection de la santé humaine et de l'environnement [Otitoloju, 2003], d'une part, et dans les méthodologies et processus d'évaluation des risques [Suter II, 2006] ; [Perrodin, 2006] ; [Ragas, 2008].

Approche « matrices » avec mise en œuvre d'une batterie de bioessais mono-spécifiques

Outre les remarques produites dans le paragraphe sur les effets non pris en compte, on peut compter une autre incertitude, associée à cette approche (batterie de bioessais), et qui concerne surtout les essais de longue durée (Dm 21j, par exemple) : le processus de dégradation des polluants présents dans l'échantillon étudié qui n'est pas pris en compte. Ceci nécessite la conduite d'autres expérimentations spécifiques qui n'ont pas fait l'objet de cette thèse.

V.4. LA SEPARATION DES PHASES DANS LA METHODOLOGIE D'EDRECOTOX SELON L'APPROCHE A POSTERRIORI

En vue de mieux localiser la pollution dans les échantillons des zone benthique et hyporhéique et sur la base de la nature des échantillons (très sableux pour l'horizon benthique et moins sableux pour l'horizon hyporhéique), on a procédé à une séparation des phases sur la base d'un temps de décantation arbitraire pour faciliter la mise en œuvre des différents essais écotoxicologiques. Ce choix arbitraire constitue une approche possible pour cerner la question mais elle génère également certaines incertitudes qui n'ont pas été approfondies dans le cadre de cette étude. Cependant, cette approche s'est révélée intéressante en ce qui concerne les informations recueillies et méritent de ce fait d'être optimisée.

V.5. LIMITES D'UN POINT DE VUE GENERAL

Dans le cadre de cette thèse, toutes les données figurant dans ce document n'ont pas systématiquement fait l'objet de traitement statistiques en vue de vérifier leur reproductibilité. La répétabilité de certaines observations n'a été vérifiée que dans certains cas spécifiques. En raison de la lourdeur de la partie expérimentale de cette thèse mais également de la nature même des rejets traités, il n'était pas évident de procéder à des expérimentations permettant de générer les données suffisantes pour procéder à ces vérifications.

VI. RECOMMANDATIONS

LA GESTION DES RUTP

Les résultats obtenus dans le cadre de ces travaux nous incitent à suggérer une amélioration du mode de gestion des RUTP. En effet, les deux fractions de ces rejets (eau et particules) présentent un risque vis-à-vis des écosystèmes des milieux récepteurs respectifs des deux *scenarii* étudiés. Et les particules contenues dans ces RUTP ont été identifiées comme étant l'une des fractions induisant des risques très importants pour les organismes de ces milieux. En raison des conditions spécifiques de chacun des sites d'étude retenus pour la conduite de ces travaux, nous proposons, en termes de premières recommandations :

VI.1. POUR LE SCENARIO FRANÇAIS

Le site de Grézieu-La-Varenne présente la particularité d'être un site péri-urbain et dont les RUTP sont déversés dans un petit cours d'eau qui peut complètement s'assécher pendant plusieurs mois de l'année (période estivale). Au cours de ces périodes, le DO du Pont de la Barge, lorsqu'il est actif, constitue l'une des principales sources d'apport de débit pour cette rivière. Ce qui a pour conséquence d'augmenter le facteur de risque pour les organismes de cette rivière, comme nous l'avons montré à travers cette étude, même pour un petit débit du DO (1 L/s).

D'un autre côté, le bassin-versant de la Chaudanne présente l'avantage d'être un bassin-versant expérimental et où des initiatives ont déjà été entreprises et d'autres en phase d'élaboration ou de mise en œuvre. En ce sens, nous harmoniserons nos recommandations avec les premiers retours d'expérience et les propositions d'aménagement qui ont été formulées dans le cadre d'étude antérieures réalisées sur ce site.

En terme d'intervention prioritaire, nous proposons de limiter l'apport en MES dans cette rivière. En effet, les particules contenues dans les MES des RUTP jouent un rôle important dans le niveau de contamination observée pour cette rivière et notamment pour les stations situées en aval du DO du Pont de la Barge. Parmi les éléments qui peuvent contribuer à atteindre cet objectif on peut citer :

- la diminution des volumes de RUTP déversés dans la rivière, c'est-à-dire, revoir le débit minimal qui actionne le fonctionnement du DO du Pont de la Barge ;
- l'aménagement d'un ouvrage de dérivation permettant de rejeter les RUTP du DO en aval du point de rejet actuel (la distance la plus adéquate est à définir). Au cours de cette dérivation, les RUTP traverseraient un dispositif de rétention des particules qui peut d'ailleurs être couplé avec un système de traitement des polluants dissous, tel qu'un filtre à macrophytes par exemple. Il faudra également prendre en compte les autres points de déversement de rejets existant le long de cette rivière et empêcher tout rejet direct d'effluents pollués dans la rivière Chaudanne surtout en amont des zones les plus sensibles de cette rivière (la station S4, par exemple).

L'association d'un procédé de traitement spécifique de l'ammonium aux aménagements à mettre en place présenterait le double avantage de protéger à la fois les organismes de la colonne d'eau et ceux des zones benthique et hyporhéique.

Ces propositions sont cependant à harmoniser dans le cadre d'un plan global d'aménagement pour la rivière Chaudanne en vue d'assurer un bon fonctionnement de ce cours d'eau et une bonne gestion des résidus pollués du système de traitement des RUTP qui serait installé au niveau de ce site.

Une autre mesure d'accompagnement de la mise en place de ces techniques alternatives de gestion des RUTP consiste en la maîtrise du taux d'imperméabilisation du bassin-versant de la Chaudanne. En effet, en assurant le maintien d'un faible taux d'imperméabilisation au niveau de ce bassin-versant on est certain de diminuer les débits à son exutoire. Ce qui peut engendrer des effets bénéfiques pour le cours d'eau récepteur.

Une meilleure gestion à la source des polluants émis au sein de ce bassin-versant constitue également une alternative pouvant contribuer à diminuer les concentrations en polluants des RUTP déversés par le DO et, de ce fait, réduire les impacts négatifs de ces rejets sur la rivière Chaudanne.

VI.2. POUR LE SCENARIO HAÏTIEN

Piste à explorer pour une meilleure gestion des RUTP

En ce qui concerne le scénario haïtien, les résultats de cette étude révèlent la nécessité de développer d'autres schémas de gestion des rejets liquides en Haïti et notamment des RUTP. Certaines caractéristiques générales (forte pente, très faible couverture forestière, inexistence de réseau d'assainissement, problème de gestion des déchets, les conditions pluviométriques, problème de réglementation, …) couplées à d'autres caractéristiques de la zone d'étude (zone essentiellement urbanisée, lieu de concentration des principales activités du pays, …) sont autant de facteurs qui contribuent à augmenter le degré de complexité du problème. Cependant, l'urgence demeure en vue de trouver des techniques alternatives de gestion de ces rejets car depuis les années 1980 des phénomènes d'envasement ont été signalés au niveau de la Baie de Port-au-Prince (exutoire final du Canal Bois-de-Chêne), néfastes pour des écosystèmes littoraux de types mangroves à palétuviers ou de récifs coralliens [MTPTC, 1980]. La recherche de solutions alternatives adéquates nécessite la mise en commun des réflexions de différents secteurs du pays : le Secteur de la recherche scientifique, l'Etat, les Municipalités, le Secteur Privé, la Population Civile ainsi que des différents acteurs intervenant dans le secteur de l'Eau Potable et de l'Assainissement (EPA) en Haïti.

Cependant, certaines actions peuvent déjà être entamées ou renforcées dans le pays, dont notamment :

- la conduite d'autres travaux de recherche portant spécifiquement sur cette problématique. Ces derniers peuvent conduire à la mise en place de certains outils permettant d'apprécier l'état de dégradation de la situation et d'autres devant contribuer à l'élaboration d'objectifs de qualité et de restauration du milieu récepteur concerné ;

- l'incitation et le renforcement des initiatives de reboisement au niveau du pays en vue de diminuer les problèmes liés au ruissellement qui est nettement favorisé au détriment de l'infiltration dans le contexte actuel. Cette activité permettra de réduire le volume de particules constituant des surfaces d'adsorption pour les polluants. Cependant, en parallèle il faudra trouver des alternatives de traitement pour les polluants dissous ;
- le rejet ou l'entreposage adéquat des sédiments issus du curage des différents dégraveurs installés sur le réseau de drainage de Port-au-Prince ;
- accentuer les activités d'information et de formations de la population en vue de parvenir à l'adoption d'autres modèles de gestion des déchets et des rejets liquides dans le pays ;
- une intervention accentuée de l'Etat dans la mise en place de structures adaptées et la prise de décisions adéquates permettant d'améliorer la situation existante, dont l'élaboration et l'application de réglementation en rapport à cette problématique.

Intégration des outils écotoxicologiques en Haïti

Dans le cadre de cette thèse, les outils écotoxicologiques utilisés se sont révélés adéquats pour la quantification des effets toxiques qui sont associés au scénario étudié, même s'il reste encore des travaux d'optimisation à réaliser en ce qui concerne l'adaptation des protocoles existants au contexte d'un pays tropical. La poursuite du développement de ces outils présentent des avantages tels que :

- la capacité de caractériser la qualité des milieux naturels et de suivre leur évolution (dégradation ou restauration) ;
- un apport dans le processus de mise en place de réglementation en matière de déchets (définition de taxes, de limites autorisées ; fixation d'objectifs qualitatifs ; …) ;
- la capacité d'évaluer la toxicité potentielle de déchets ou de procédés avant leur introduction dans le milieu ;
- la mise à disposition d'un outil d'aide à la décision ;
- etc.

PARTIE E : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cette partie de la thèse présente les principales conclusions découlant de ce travail, tant sur le plan scientifique, méthodologique qu'en terme de contribution à l'amélioration de la gestion des RUTP. Sur la base de ces conclusions, quelques perspectives de recherche portant sur les démarches proposées et certains protocoles utilisés sont également présentées.

I. CONCLUSIONS GENERALES

Cette étude s'inscrit dans la problématique de **l'Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau**. Nous nous sommes restreints à des *scenarii* de déversement de ce type de rejets dans des milieux aquatiques lotiques. Dans un premier temps, l'écotoxicité et les effets combinés de polluants généralement présents dans les RUTP ont été évalués vis-a-vis d'un crustacé et d'une algue d'eau douce. Dans un second temps, nous avons proposé une démarche méthodologique élaborée suivant deux approches (une approche *a priori* et une approche *a posterio*) devant permettre d'évaluer les risques liés au scénario de déversement de RUTP dans les cours d'eau. Ces deux approches ont, par la suite, été appliquées à des sites d'étude différents (un site français et un site haïtien pour l'approche *a priori* ; le même site français pour l'approche *a posteriori*). Sur la base des principaux résultats obtenus dans le cadre de ce travail de thèse, et de la discussion réalisée autour de ces résultats, nous pouvons à présent dégager les principales conclusions de cette étude, par rapport aux trois objectifs particuliers qui étaient visés au départ : un objectif scientifique, un objectif méthodologique et un objectif portant sur des propositions en terme d'amélioration des pratiques de gestion des RUTP pour les *scenarii* étudiés.

I.1. ASPECT SCIENTIFIQUE

I.1.1. Etudier l'écotoxicité et les effets combinés de polluants généralement présents dans les RUTP

Au cours de cette phase, l'écotoxicité de quatre polluants métalliques (nitrates de Cd, de Cu, de Pb et de Zn) et du sulfate d'ammonium a été étudiée au moyen de solutions synthétiques préparées en laboratoire et testées vis-à-vis de deux organismes dulçaquicole : le crustacé *Daphnia magna* (pour les 5 polluants) et l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* (pour les 4 polluants métalliques uniquement). Les effets combinés de ces polluants ont été étudiés vis-à-vis de ces mêmes organismes, sur la base de mélanges binaires testés suivant cinq ratios différents et au moyen de deux méthodes : i) la comparaison des CE_{50} obtenues ; ii) l'utilisation du modèle des TI (*Toxicity Index*). Cette étude a été bouclée sur la réalisation de calculs de spéciation afin d'aider à mieux apprécier les conditions qui ont conduit à observer les effets mis en évidence vis-à-vis des organismes tests utilisés (Section I de la partie « Matériels et Méthodes »).

Au terme de l'ensemble de ces activités, et après avoir comparé les résultats obtenus aux données de la littérature ([Marking, 1977] ; [Belkhadir, 1979] ; [EIFAC, 1980] ; [Mayfield, 1987] ; [Campbell, 1995] ; [Deneer, 2000]), il ressort de cette étude que (Section I de la partie « Résultats ») :

- le nitrate de cuivre (Cu) est le sel le plus toxique vis-à-vis des deux organismes tests (*D. magna et P. subcapitata*) ;
- les polluants utilisés peuvent donner lieu aux trois types d'effets combinés possibles (additivité, synergie, antagonisme) vis-à-vis des organismes tests utilisés et que certains des effets de synergie mis en évidence peuvent être qualifiés de relativement importants ;
- les types d'effets combinés mis en évidence sont fonctions de l'organisme test ;

- certains des complexes formés dans les solutions d'essai testés peuvent contribuer aux effets toxiques observés.

I.1.2. Evaluer les risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau

Ce volet portait sur deux sites d'étude différents : un site en France et un site en Haïti. Cette évaluation des risque a été réalisée au moyen d'une méthodologie d'EDREcotox qui a été préalablement élaborée dans le cadre de cette thèse. Cette méthodologie a été développée sur la base de deux approches : une approche *a priori* et une approche *a posteriori*. Ces approches ont ensuite été appliquées au site d'étude français (approche *a priori* et approche *a posteriori*) et au site haïtien (approche *a priori*) sur la base d'échantillons de RUTP prélevés au niveau de chacun de ces sites et caractérisés en laboratoire (Section II, III, IV,V de la partie « Matériels et Méthodes »).

L'ensemble de ces activités a conduit aux résultats suivants (Section II, III, IV, V, VI de la partie « Résultats ») :

Les caractéristiques physico-chimique et écotoxicologique des échantillons de RUTP

Les échantillons de RUTP des deux sites d'étude (français et haïtien) présentent une écotoxicité intrinsèque respectives vis-à-vis des organismes tests constituants les batteries de bioessais mono-spécifiques utilisées pour les caractériser. Nous avons également montré, que chacune des fractions de ces échantillons de RUTP (fraction « eau » et fraction « particules ») est toxique, avec une toxicité plus importante de la fraction particulaire des RUTP.

Les résultats de la caractérisation physico-chimique de ces échantillons ont révélé la présence d'ammonium et de métaux à des concentrations non négligeables dans ces rejets. Ces polluants figurent donc parmi les principaux polluants qui peuvent conduire aux effets toxiques observés pour les échantillons des deux sites d'étude.

Les risques écotoxicologiques liés au déversement des échantillons de RUTP étudiés dans les cours d'eau

Les risques découlant du déversement de ces RUTP dans les cours d'eau ont été estimés au moyen d'une démarche *a priori* et en procédant à la caractérisation des effets sur la base de trois approches : « substances », « substances avec effets combinés », « bioessais mono-spécifiques ». Il en découle, que le déversement de ces RUTP dans les cours d'eau concernés présentent des risques importants (Indice de Risque très supérieur à 1) pour les organismes des milieux récepteurs respectifs de chacun des sites d'étude et que les risques sont nettement plus importants pour les organismes exposés aux particules de ces RUTP (Indice de risque très largement supérieur à 1). Cependant ces indices de risque sont à analyser avec prudence en raison des hypothèses simplificatrices associées à la démarche utilisée et de différents effets et polluants qui n'ont pas été pris en compte dans la phase caractérisation des effets, au cours de l'application de cette démarche *a priori*.

Les risques écotoxicologiques pour un cours d'eau français ayant un tronçon exposé au déversement de RUTP

Les risques découlant du déversement de ces RUTP dans le cours d'eau du scénario français, la rivière Chaudanne, ont été également estimés au moyen d'une démarche *a posteriori*. Cette approche *a posteriori* repose sur une comparaison d'un état « amont » et d'un état « aval » de ce cours d'eau, par rapport au DO qui y déversent ses RUTP. Chacun de ces états (amont et aval) sont identifiés par des stations d'étude matérialisées sur le cheminement de cette rivière. Les résultats obtenus ont mis en évidence un risque pour les organismes des deux stations aval du DO. Ce risque est plus important pour les organismes des zones benthique et surtout hyporhéique de la station la plus éloignée (station S4) de ce DO. Le risque mis en évidence au niveau de la station S4 est lié aux conditions locales de cette dernière qui facilitent l'infiltration des particules déversées par le DO dans les compartiments benthique et hyporhéique de cette station.

Une comparaison des résultats obtenus pour le scénario français sur la base de la démarche *a priori* à ceux obtenus suite à l'application de la démarche *a posteriori* ont conduit à des résultats cohérents qui mettent en évidence un risque important pour les organismes des deux compartiments de la rivière Chaudanne qui sont exposés au déversement de ces rejets. Ce risque est plus important pour les organismes du sédiment des zones benthique et surtout hyporhéique de ce cours d'eau et les particules contenues dans les RUTP déversés ont été identifiés comme les principales sources des effets toxiques observés. De plus, les conclusions de cette étude sont en accord avec celles d'autres études antérieures conduites sur la rivière Chaudanne, sur la base d'une approche écologique, et qui ont mis en évidence des problèmes d'impacts qui sont dus aux déversements de RUTP dans cette rivière.

I.2. ASPECT METHODOLOGIQUE

Elaborer une démarche méthodologique d'évaluation des risques écotoxicologiques liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau

Cette étape était essentielle pour la réalisation de l'EDREcotox liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau. Dans le cadre de cette thèse, deux démarches ont été développées : une démarche *a priori* et une démarche *a posteriori*. Cependant, ce travail ne constitue qu'une première étape dans l'élaboration de procédures d'Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) liés au déversement de RUTP dans les cours d'eau, ou à l'échelle de différents milieux aquatiques. Ils restent encore beaucoup de points à approfondir par rapport à ces démarches qui reposent sur plusieurs hypothèses simplificatrices.

Néanmoins, la cohérence observée entre les résultats obtenus sur la base des deux approches élaborées offre la possibilité de mettre à la disposition du gestionnaire un outil lui permettant d'évaluer, même sommairement, les risques écotoxicologiques associés à cette forme de gestion des RUTP, aussi bien dans le cadre d'une situation réelle que dans le cadre d'un nouveau projet.

En effet, dans le cas d'un déversement existant, il sera en mesure de réaliser une première appréciation globale des risques, sur la base d'une approche *a priori* et/ou d'une approche *a posteriori*. Si un impact est constaté, il pourra tester différentes solutions techniques d'amélioration de la situation existante à l'aide de l'approche *a priori*. Dans le cas d'un nouveau rejet, lié à un nouvel aménagement urbain, il pourra mettre en œuvre l'approche *a priori* au moment de la conception du dispositif d'assainissement pour vérifier l'absence de risques de ce nouveau rejet pour le cours d'eau du milieu récepteur.

I.3. GESTION DES RUTP DANS LE CADRE D'UN DEVERSEMENT DANS LES COURS D'EAU

Cette thèse a mis en évidence que des RUTP peuvent être toxiques pour les organismes des cours d'eau récepteurs et qu'ils peuvent présenter des risques importants pour ces organismes. Elle a également mis en évidence que les particules contenues dans ces RUTP constituent l'un des éléments responsables de cette toxicité. De ce fait, il est nécessaire d'adopter de nouvelles pratiques de gestion de ces RUTP. Ce qui nous a conduit à formuler certaines recommandations qui peuvent contribuer à améliorer cette situation.

II. PERSPECTIVES

II.1. PERSPECTIVES SCIENTIFIQUES

Etude de l'écotoxicité et des effets combinés des principaux polluants présents dans les RUTP

Les premiers résultats obtenus suite à l'étude de l'écotoxicité et des effets combinés des principaux polluants présents dans les RUTP nécessitent une validation et incitent à proposer d'approfondir cette démarche. A cette fin, il serait intéressant de coupler expérimentation et modélisation. Parmi les points à approfondir, on peut citer :

- la prise en compte des interactions entre les éléments testés (métal, ammonium) et l'organisme test (*D. magna*, *P. subcapitata*).
- l'étude d'autres polluants (organiques et inorganiques) qui sont présents dans les RUTP ; utiliser d'autres sels dans les mêmes conditions que celles utilisées dans le cadre de cette étude ;
- l'augmentation du degré de complexité des mélanges ; tester d'autres ratios ;
- la réalisation de mesures réelles de spéciation, en utilisant, par exemple des sondes spécifiques permettant de connaître les fractions libres ou biodisponibles des métaux ;
- l'utilisation d'autres modèles pour l'étude des effets combinés des polluants en mélange (CA, IA, TU) ;
- l'utilisation d'autres bioessais développés avec d'autres organismes de la colonne d'eau (bactérie, rotifère, …) ou bien des organismes vivant dans les zones benthique ou hyporhéique (ostracode, …) des milieux aquatiques ;

Amélioration des phases de caractérisation de l'exposition et des effets des RUTP vis-à-vis d'organismes des cours d'eau

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse se révèlent très instructifs. Cependant, ils nécessitent non seulement un travail de validation mais également d'être complétés par la conduite d'autres études sur cette même problématique. Il est, de ce fait, nécessaire de procéder à d'autres campagnes de prélèvements qui feraient l'objet de processus de caractérisation détaillée tant sur le plan physico-chimique, écotoxicologique que microbiologique. Ces expérimentations permettraient dans un premier temps de valider les batteries de bioessais utilisées dans le cadre de ces travaux. D'autres essais mono-spécifiques pourraient éventuellement être rajoutés à ces batteries, notamment des essais avec des poissons en vue de mieux appréhender les problèmes liés aux concentrations d'ammonium présents dans ces rejets. En effet, cet organisme a fait l'objet d'un nombre important d'études vis-à-vis de cette substance et de l'amoniac, ce qui faciliterait probablement les comparaisons avec des données de la littérature.

En terme de caractérisation des effets, nous proposons donc de poursuivre ces travaux en :

- approfondissant les recherches sur la contribution de l'ammonium dans les effets toxiques mis en évidence ;
- approfondissant les recherches sur la contribution des métaux dans les effets toxiques mis en évidence, notamment en vue de comprendre comment ces derniers réagissent lorsqu'ils sont en mélange vis-à-vis des organismes tests constituant les batteries de bioessais utilisées ;
- utilisant des essais pluri-spécifiques ;
- utilisant des outils de modélisation afin de contribuer à la compréhension des mécanismes d'action des polluants présents dans ces rejets ;
- prenant en compte les phénomènes de bioaccumulation, de biodisponibilité, de spéciation, …

La caractérisation de l'exposition des organismes est également un domaine dans lequel il faut intervenir, notamment en :

- utilisant des outils de modélisation afin de mieux comprendre le mécanisme d'exposition des organismes aux polluants présents dans ces rejets ;
- prenant en compte les phénomènes de spéciation, … ;

Méthodologie d'EDREcotox

Les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse permettent de proposer les deux approches méthodologiques d'EDREcotox développées pour des *scenarii* similaires. Cependant, il est nécessaire de valider ces démarches en les appliquant à d'autres sites confrontés à cette même problématique. Il est également nécessaire de continuer à optimiser les phases de caractérisation de l'exposition et des effets écotoxicologiques de chacune des démarches de cette méthodologie d'EDREcotox en vue d'intégrer certains aspects comme ceux cités ci-dessus, par exemple.

L'évaluation des incertitudes associées aux risques estimés dans le cadre de ces travaux constitue également un point important qui nécessite d'être approfondi.

II.2. PERSPECTIVES EN TERME DE DEVELOPPEMENT D'ESSAIS ECOTOXICOLOGIQUES OU D'ADAPTATION DE PROTOCOLE EXISTANT

De manière générale

Dans le cadre des essais mis en œuvre au cours de la conduite de ces travaux, nous avons expérimenté un protocole de réalisation de l'essai « ostracode » (*Heterocypris incongruens*) au moyen d'une gamme de dilutions des matrices solides étudiées, avec un suivi en parallèle de l'O_2 dissous et de la température. Cet essai se révèle pertinent et nous proposons de poursuivre les travaux de mise au point de ce protocole.

Pour Haïti

Les principales contraintes mises en évidence au cours de la réalisation de ce travail de thèse devront figurer parmi les priorités de l'Unité d'Ecotoxicologie Tropicale (UnET) du LAQUE. Il est nécessaire :

- de développer une méthodologie d'EDREcotox préliminaire en vue d'évaluer les risques liés à un scénario de déversement de RUTP en milieu marin ;
- de parvenir à trouver des organismes autochtones répondant aux principaux critères de choix présentés dans la littérature et permettant de les considérer comme des organismes représentatifs des milieux tropicaux (sensibilité, disponibilité sur l'année, représentativité, facilité d'élevage en laboratoire, …) afin de disposer d'une batterie minimale de bioessais permettant d'apprécier la toxicité des rejets de polluants déversés dans le milieux aquatiques d'Haïti. Cette initiative a déjà été initiée et a conduit à la découverte de certaines espèces (*Daphnia sp*., …) qui pourraient répondre à ces critères ;
- de développer des protocoles qui soient rigoureux mais adaptés aux organismes des pays tropicaux, pour la mise en œuvre d'essais en Haïti ;
- en attendant de parvenir à bien cerner les deux précédents points, de continuer à travailler sur l'adaptation de protocoles existants, notamment en ce qui concerne les Toxkit™, par rapport à la contrainte de température de réalisation des bioessais, par exemple, qui a été mise en évidence dans le cadre de cette thèse. En parallèle à ce travail, on pourra réaliser des essais dans les conditions qui auront été définies avec des substances de référence afin de connaître la sensibilité de ces organismes dans ces conditions là.

Les échanges d'expérience entre pays du Nord et pays du Sud se sont révélés très positifs en termes d'acquis scientifiques. Il serait donc intéressant de poursuivre sur cette base dans le cadre de cette réflexion globale sur les stratégies de gestion durable des Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aalderink R. H. et Lijklema L., 1985, Water quality effects in surface waters receiving storm water discharges. Water in urban areas. The Hague: TNO Committee on Hydrological Research. Proceedings and Information n° 33143-159p.

Aalderink R. H., Van Duin E. H. S., Peels C. E. et Scholten M. J. M., Some characteristics of run-off quality from separated sewer system in Leleystad, The Netherlands. In: 5th International Conference on Urban Storm Drainage, Osaka, 1990. pp. 427-432

Abrantes N. et Goncalves F., 2003, The dynamics of *Ceriodaphnia pulchella* (*Cladocera*) in laboratory. Acta Oecologica, Vol. 24, pp. 245-249

ADEME, 2002a, Ecotoxicologie des sols et des déchets : Résultats des tests biologiques. Angers: Editions ADEME

ADEME, 2002b, Evaluation de l'écocompatibilité des scénarios de stockage et de valorisation des déchets. Angers: Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie. Rapport n°4445. 148p.

ADEME, 2005a, Développement d'une méthode de sélection des tests biologiques de toxicité et de génotoxicité adaptée à différents *scenarii*. Programme de recherche le l'Agence De l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie 262p.

ADEME, 2005b, Guide d'évaluation des risques pour l'environnement liés au stockage mono-déchets. ADEME, INERIS, EEDEMS. 78p.

AERMC, 2002, Guide technique N° 7. Pollution toxique et écotoxicologie : notion de base. Lyon: Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse. 84p.

Agences de l'Eau et STU, 1994, Guide technique des bassins de retenue d'eaux pluviales. Paris: Lavoisier TEC & DOC. 275p.

Allen H. E. et Hansen D. L., 1996, The importance of trace metal speciation to water quality criteria. Water Environment Research, Vol. 68, pp. 42-54

Altenburger R., Bödeker W., Faust M. et Grimme L. H., 1990, Evaluation of the isobologram method for the assessment of mixtures of chemicals. Combination effect studies with pesticides in algal biotests. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 20, n° 1, pp. 98-114

Altenburger R., Backhaus T., Boedeker W., Faust M., Scholze M. et Grimme L. H., 2000, Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: Mixtures composed of similarly acting chemicals. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 19, n° 9, pp. 2341-2347

Alzieu C., GEODRISK : Logiciel d'évaluation des risques liés à l'immersion des boues de dragage des ports maritimes. Plouzané: Editions IFREMER, 2001.

An Y.-J., Kim Y.-M., Kwon T.-I. et Jeong S.-W., 2004, Combined effect of copper, cadmium and lead upon *Cucumis sativus* growth and bioaccumulation. Science of The Total Environment, Vol. 326, n° 1-3, pp. 85-93

Angerville R., Boillot C. et Perrodin Y., 2009, Evaluation of the combined effects of binary mixtures of sodium hypochlorite and surfactants against *Daphnia magna Straus.* Int. J. Environmental Technology and Management, Vol. 10, n° 3/4, pp. 353-370

Ankley G. T., Katko A. et Arthur J. W., 1990, Identification of ammonia as an important sediment associated toxicant in the lower Fox river and Green bay, Wisconsin. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 9, pp. 313-322

Arambourou H., 2007, Hydrogéochimie des métaux lourds en milieu hétérogène non saturé - Transferts des métaux lourds dans les ouvrages d'infiltrations d'eaux pluviales. Master en Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain. Vaulx-en-Velin et Villeurbanne: Laboratoire des Sciences de l'Environnement de l'Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat et Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 71p.

Arimoro F. O., 2006, Culture of the freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*, and its application in fish larviculture technology. African Journal of Biotechnology, Vol. 5, n° 7, pp. 536-541

Atkins P. W. et Jones L., 2007, Chimie: Molécules, matière, métamorphoses. Paris : De Boeck Université. 1018p.

ATSDR, Toxicological profiles for copper. Atlanta, GA : ATSDR. US department of Health and Human Services, Public Health Services.

Aubry G., 2003, Enlèvement de l'azote des eaux usées par un procédé à culture fixée immergée. Mémoire de Maîtrise en génie civil. Laval: Université Laval - Département de Génie Civil - Faculté des Sciences et de Génie, 147p.

AZUR Environmental, 1998a, Microtox® Basic Solid-Phase Test (BSPT) procedure. AZUR Environmental. 16p.

AZUR Environmental, 1998b, Microtox® Solid-Phase Test (SPT) procedure. AZUR Environmental. 20p.

Azzout Y., Cres F. N., Barraud S. et Alfakih E., 1994, Techniques alternatives en assainissement pluvial. Paris: Tech et Doc. 372p.

Babut M. et Perrodin Y., 2001, Evaluation écotoxicologique de matériaux de dragage - (1) présentation et justification de la démarche. CETMEF, CEMAGREF, ENTPE, VNF, Centre d'Etudes Techniques Maritimes et Fluviales47p.

Backhaus T., Altenburger R., Boedeker W., Faust M., Scholze M. et Grimme L. H., 2000, Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilary acting chemicals to Vibrio fischeri. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 19, pp. 2348-2356

Backhaus T., Faust M., Junghans M., Meyer W., Scholze M., Horst Grimme L., Altenburger R., Grote M., Walter H., Arrhenius A., Blanck H., Porsbring T., Finizio A., Todeschini R., Vighi M., Gramatica P. et Pavan M., 2003, The BEAM-project: Prediction and assessment of mixture toxicities in the aquatic environment. Continental Shelf Research, Vol. 23, n° 17-19, pp. 1757-1769

Badin A.-L., 2009, Répartition et influence de la matière organique et des microorganismes sur l'agrégation et le relargage de polluants dans des sédiments issus d'eaux pluviales urbaines. Thèse. Spécialité : Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain. Lyon: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 231p.

Bailey H. C., Elphick J. R., Krassoi R. et Lovell A., 2001, Joint acute toxicity of diazinon and ammonia to *Ceriodaphnia dubia.* Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20, n° 12, pp. 2877-2882

Bascombe A. D., Ellis J. B., Revitt D. M. et Shutes R. B. E., 1990, The development of ecotoxicologial criteria in urban catchments. Water Science and Technology, Vol. 22, pp. 173-179

Bednarz T. et Warkowska-Drathal H., 1983-1984, Toxicity of zinc, cadmium, lead and copper and theri mixture for *Chlorella pyrenoidosa.* Acta Hydrobiol., Vol. 25/26, n° 3/4, pp. 398-400

Belanger S. E., Lee D. M., Bowling J. W. et LeBlanc E. M., 2004, Responses of periphyton and invertebrates to a tetradecyl-pentadecyl sulfate mixture in stream mesocosms. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 23, n° 9, pp. 2202-2213

Belkhadir E. M., 1979, Etude sur l'écotoxicologie des hydrocarbures aromatiques légers en milieu dulçaquicole. Thèse. Metz: Université de Metz, 204p.

Berenbaum M. C., 1981, Criteria for analysing interactions between biologically active agents. Adv. Cancer, Vol. 35, pp. 269-335

Berenbaum M. C., 1985, The expected effect of a combination of agents: The general solution. J. Theor. Biol, Vol. 114, pp. 413-431

Bermond M., 2002, Evaluation des risques écotoxicologiques : fondements théoriques et mise en application en France. Synthèse technique. Montpellier: Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, Office International de l'Eau16p.

Bernoud S., 1998, Réponse écologique d'un ruisseau périurbain aux rejets de temps de pluie. Rapport de stage de Mastère. Spécialité : Eau Potable et Assainissement. Strasbourg : Ecole Nationale du Génie de l'Eau et de l'Environnement de Strasbourg, 46p.

Bertrand-Krajewski J.-L., 2006, Les polluants des rejets urbains de temps de pluie : natures, concentrations, flux, caractéristiques physico-chimiques, solides en suspension, et répartition temporelle durant les événements pluvieux. Cours d'Hydrologie Urbaine. Partie 7. Villeurbanne : URGC Hydrologie Urbaine. 53p.

Bertrand-Krajewski J.-L., Becouze C., Dembélé A., Coquery M., Cren-Olivé C., Barillon B., Dauthuille P., Chapgier J., Grenier-Loustalot M.-F. et Marin P., Priority pollutants in stormwater: the "ESPRIT" project. In: 11th International Conference on Urban Drainage, Edinburgh (Scotland), 2008. pp. 10

Bliss C. I., 1939, The toxicity of poisons applied jointly. Ann. Appl. Biol., Vol. 26, pp. 585-615

Blust R., Fontaine A. et Decleir W., 1991, Effect of hydrogen ions and inorganic complexing on the uptake of copper by the brine shrimp *Artemia franciscana.* Mar. Ecol. Prog. Ser., Vol. 76, pp. 273-282

Boillot C., 2008, Evaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans le milieux aquatiques : Contribution à l'amélioration de la phase " caractérisation des effets ". Thèse. Spécialité : Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain. Lyon: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 292p.

Borchardt D. et Sperling F., 1997, Urban stormwater discharges: ecological effects on receiving waters and consequences for technical measures. Water Science and Technology, Vol. 36, pp. 173-178

Breil P., 2008, Relevé de débits pour la rivière Chaudanne et le déversoir d'orage du Pont de la Barge (Période 2007 - 2008). Données internes. Lyon: CEMAGREF de Lyon

Brown J. N. et Peake B. M., 2006, Sources of heavy metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in urban stromwater runoff. Sci. Total Environ., Vol. 359, pp. 145-155

Brown V. M., 1968, The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout. Water Res., Vol. 2, n° 10, pp. 723-733

Brunet C., 2000, Effets interactifs d'une forte charge en éléments nutritifs et de la vitesse du courant sur la communauté périphytique : étude en canaux artificiels. Thèse. Spécialité : Analyse et modélisation des systèmes biologiques. Lyon: Université Claude Bernard, Lyon 1, 186p.

Burton Jr G. A., 1991, Assessing the toxicity of freshwater sediments. nvironmental Toxicology and Chemistry, Vol. 10, pp. 1585-1627

Burton Jr G. A., Nelson M. K. et Ingersoll C. G., 1992, Freshwater benthic toxicity tests. In Burton Jr, G. A., eds. Sediments Toxicity Assessment, London : Lewis Publishers, pp. 213-240

Burton Jr G. A. et McPherson C., 1995, Sediment toxicity testing issues and methods. In: Handbook of ecotoxicology. Hoffman D. J., Rattner, B. A., Burton Jr, G. A. and Cairns, J. J., eds. Lewis. Boca Raton, FL, USA. pp. 755

Burton Jr G. A. et Pitt R. E., 2001, Stormwater effects handbook: A toolbox for watershed managers, scientists, and engineers. Boca Raton : CRC/Lewis Publishers. 911p.

C. E., European Commission. Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances - Part II. Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on risk assessment for existing substances; Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biological products on the market.

Cairns Jr J., Niederlehner B. R. et Pratt J. R., 1990, Evaluation of joint toxicity of chlorine and ammonia to aquatic communities. Aquatic Toxicol., Vol. 16, pp. 87-100

Cairns Jr J. et Cherry D. S., 1993, 7: Freshwater multi-species test systems. In: Calow, P., Handbook of ecotoxicology, Vol. 1. Oxford: Blackwell Scientific Publications. pp. 101-116

Cairns Jr J., Bidwell J. R. et Arnegard M. E., 1996, Toxicity testing with communities: microcosms, mesocosms, and whole-system manipulations. Rev Environ Contam Toxicol, Vol. 147, pp. 45-69

Cairns Jr. J., 1983, Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? Hydrobiologia, Vol. 100, pp. 47-57

Calabrese E. J., 1999, Evidence that hormesis represents an "overcompensation" response to disruption in homeostasis. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 42, pp. 135-137

Calabrese E. J. et Baldwin L. A., 2000, Defining hormesis. Hum. Exp. Toxicol., Vol. 19, pp. 32-40

Calabrese E. J. et Baldwin L. A., 2002, Hormesis and High-Risk Groups. Regulatory Toxicology and Pharmacology, Vol. 35, n° 3, pp. 414-428

Calabrese E. J., 2008, Hormesis: Why it is important to toxicology and toxicologists. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 27, n° 7, pp. 1451-1474

Calamari D. et Alabaster J. S., 1980, An approach to theoretical models in evaluating the effects of mixtures of toxicants in the aquatic environment. Chemosphere, Vol. 9, pp. 533-538

Calow P., 1993, General Principles and overviews. In: Calow, P., Handbook of ecotoxicology, Vol. 1. Oxford: Blackwell Scientific Publications. pp. 1-5

Calow P., 1996, Variability: Noise or information in ecotoxicology? Environ. Toxicol. Pharmacol., Vol. 2, n° 2-3, pp. 121-123

Campbell P. G. C., 1995, Interactions between trace metals and organisms: critique of the free-ion activity model. In: A. Tessier et D. R. Turner, J. W. S., Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Chichester, UK : John Wiley. pp. 45-102

Campbell P. G. C., Errecalde O., Fortin C., Hiriart-Baer V. P. et Vigneault B., 2002, Metal bioavailability to phytoplankton - applicability of the biotic ligand model. Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. Part C, n° 133, pp. 189-206

Caquet T., Lagadic L., Jonot O., Baturo W., Kilanda M., Simon P., Le Bras S., Echaubard M. et Ramade F., 1996, Outdoor experimental ponds (mesocosms) designed for long-term ecotoxicological studies in aquatic environment. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 34, pp. 125-133

Caquet T., Lagadic L. et Sheffield S. R., 2000, Mesocosms in Ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems environment. Rev Environ Contam Toxicol, Vol. 165, pp. 1-38

Carpenter S. R., 1996, Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. Ecology, Vol. 77, n° 3, pp. 677-680

Carpentier S., Moilleron R., Beltranc C., Hervé V. et Thévenot D., 2002, Quality of dredged material in the river Seine basin (France) - II. Micropollutants. The Science of the Total Environment, Vol. 299, pp. 57-72

Casas S., 2005, Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse : Spécialité Océanologie biologique, Environnement marin. Toulon: Université du Sud Toulon-Var, 363p.

Cauwenberg P., F. V. et A. M., 1998, Flotation as a remediation technique for heavily polluted dredged material. 2. Characterisation of flotation fraction. The Science of the Total Environment, Vol. 209, pp. 121-131

Cauzzi N., 2007, Evaluation de l'éco-compatibilité de sédiments contaminés, traités et non traités par un procédé physico-chimique, dans le cadre d'un scénario de dépôt en gravière - Etude en microcosmes aquatiques. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques du Déchet. Villeurbanne et Vaulx-en-Velin: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 341p.

CEAEQ, 1998, Procédure d'évaluation des risques écotoxicologiques pour la réhabilitation des terrains contaminés. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Ministère de l'Environnement et de la Faune, Gouvernement du Québec139p.

Cedergreen N., Kamper A. et Streibig J. C., 2006, Is prochloraz a potent synergist across aquatic species? A study on bacteria, daphnia, algae and higher plants. Aquatic Toxicol., Vol. 78, n° 3, pp. 243-252

CETMEF, 2001, Evaluation écotoxicologique de sédiments contaminés ou de matériaux de dragage. Direction de la Recherche et des Affaires Scientifiques et Techniques du Ministère de l'Equipement des Transports et du Logement et par Voies navigables de France, Centre d'Etudes Techniques Maritimes et Fluviales12p.

Chamley H., 2000, Base de sédimentologie. 2. Dunod. Paris. 178p.

Chapman P. M., Wang F., Janssen C., Persoone G. et Allen H. E., 1998, Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. Canadian Journal of Ficheries Aquatic Science, Vol. 55, n° 10, pp. 2221-2243

Chapman P. M., 2002, Ecological risk assessment (ERA) and hormesis. The Science of the Total Environment, Vol. 288, pp. 131-140

Charissou A. M., Jourdain M. J., Pandard P., Poulsen V., Devillers J., Férard J. F. et Bispo A., 2006, Démarche optimale de sélection de batterie de bioessais pour l'évaluation écotoxicologique des milieux complexes. Synthèse bibliographique. Tech. Sci. & Meth., Vol. 5, pp. 101-110

Chebbo G., Musquère P. et Bachoc A., 1990, Solides transférés dans les réseaux d'assainissement. Caractéristiques hydrodynamiques et charges polluantes. Rapport IMFT. Toulouse. 27p.

Chebbo G., 1992, Solides des rejets pluvieux urbains, caractérisation et traitabilité. Thèse de Doctorat. Paris : Ecole Nationale des Ponts et Chaussées 413p.

Chebbo G., Gromaire M. C., Ahyerre M. et Garnaud S., 2001, Production and transport of urban wet weather pollution in combined sewer systems: the "Marais" experimental urban catchment in Paris. Urban Water, Vol. 3, n° 1-2, pp. 3-15

Chèvre N., 2000, Etude et modélisation des effets écotoxiques d'un micropolluant organique sur *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata*. Thèse. Lausanne : Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne - Département de Génie rural 200p.

Chiffoleau J. F., Claisse D., Cossa D., Ficht A., Gonzalez G., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C. et Petit F., 2001, La contamination métallique. Programme scientifique Seine-Aval. Plouzané (France) : Editions IFREMER. 39p.

Chocat B., Cathelain M., Mares A. et Mouchel J. M., 1993, La pollution due aux rejets urbains de temps de pluie : impacts sur les milieux récepteurs. Exposé introductif. « La pluie, source de vie,

choc de pollution ». 146ème session du comité technique de la S. H. F. Paris, France, 17 et 18 mars 1993. La Houille Blanche, n° 1/2, pp. 97-105

Chocat B., 1994, Encyclopédie de l'hydrologie urbaine. Techniques et Documents, Lavoisier. Paris: TEC & DOC.

Chocat B., 1997, Encyclopédie de l'hydrologie urbaine et de l'assainissement. Paris: Lavoisier TEC & DOC. 1124p.

Chocat B., Bertrand-Krajewski J.-L. et Barraud S., 2007, Les eaux pluviales urbaines et les rejets urbains de temps de pluie. Techniques de l'Ingénieur, Doc. W6800, pp. 29

Christensen A. M., Nakajima F. et Baun A., 2006, Toxicity of water and sediment in a small urban river (Store Vejleå, Denmark). Environmental Pollution, Vol. 144, pp. 621-625

Christofi N., Hoffman C. et Tosh L., 2002, Hormesis of free and immobilized light-emetting bacteria. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 52, n° 227-231,

Clément B., 1994, La toxicité aiguë des lixiviats de décharge. Apports respectifs et complémentarité des approches biologique et physico-chimique. Thèse de Biologie et Biochimie Appliquées. Chambéry et Vaulx-en-Velin : Université de Savoie et LSE-ENTPE, 323p.

Clément B. et Cadier C., 1998, Development of a New Laboratory Freshwater/sediment Microcosm Test. Ecotoxicology, Vol. 7, n° 5,

Clément B., Cauzzi N., Godde M., Crozet K. et Chevron N., 2005, Pyrene toxicity to aquatic pelagic and benthic organisms in single-species and microcosm tests. Polycycl. Aromat. Comp., Vol. 25, n° 3, pp. 271-298

Clément B., 2006, Apports des essais en microcosmes aquatiques lentiques de laboratoire à l'évaluation écotoxicologique des polluants. Mémoire d'HDR. Spécialité : Biologie et Biochimie Appliquées Villeurbanne, Lyon, Vaulx-en-Velin : INSA de Lyon et Université Lyon 1, LSE-ENTPE, 277p.

Cleuvers M., 2003, Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicol. Lett., Vol. 142, n° 3, pp. 185-194

CNIGS, Jeu de fichiers de données spatiales numériques sur : la densité de l'habitat (à partir d'orthophotographies de 2002), la géomorphologie, les pentes, l'occupation des sols (année 1998), l'érosion (année 1998), les potentialités agricoles des sols (année 1982), pour le bassin-versant du Canal Bois-de-Chêne. République d'Haïti : Centre National de l'Information Géo-Spatiale. Ministère de la Planification et de la Coopération Externe

Connell *et al.*, 1999, Cité par Ramade, F. 2007.

Cournoyer B., 2009, Etude d'un dispositif de stimulation du métabolisme microbien en cours d'eau urbain. Fiche bilan. Annexe 2. STIMM. Programme " Ingénierie écologique ". Lyon : Université Lyon 1, CNRS et ENVL, Université Lyon 2 CNRS, CEMAGREF de Lyon, ENTPE. 6p.

Covello V. T. et Merkhofer M. W., 1993, Risk Assessment Methods. Plenum Press, New-York. 318p.

Crasquin-Soleau S., Les Ostracodes (Comm. pers., document non publié). 2008

Crist R. H., Oberholser K., Schwartz D., Marzoff J., Ryder D. et Crist D. R., 1988, Interactions of metals and protons with algae. Environ. Sci. & Technol., Vol. 22, n° 7, pp. 755-760

Crossland N. O. et Bennett D., 1984, Fate and biological effects of methyl parathion in outdoor ponds and laboratory aquaria - I. Fate. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 8, pp. 471-481

Crossland N. O. et La Point T. W., 1992, The design of mesocosm experiment. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 11, pp. 1-4

D. E. (Directive Européenne), Directive N° 98/83/CE du 03/11/98 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. pp. 14

D.D.A.S.S. - D.R.A.S.S. d'Ile de France, Ammonium. Service Santé - Environnement. pp. 2

Dabbadie L., Le compartiment pélagique : 3) Le zooplancton. Les organismes aquatiques. Available on: http://aquatrop.cirad.fr/encyclopedie/biologie_et_ecologie_aquatique/reseau_trophique_aquatique/les_organismes_aquatiques (03/12/2008)

Dameron C. et Howe P. D., 1998, Copper Environmental Health criteria n°200. Geneva: World Health Organization.

De Schamphelaere K. A. C. et Janssen C. R., 2002, A biotic ligand model predicting acute copper toxicity for Daphnia magna: the effect of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH. Environ. Sci. & Technol., Vol. 36, n° 1, pp. 48-54

De Schamphelaere K. A. C. et Janssen C. R., 2004, Effects of chronic dietary copper exposure on growth and reproduction of *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 23, n° 2038-2047,

DEGREMONT, 1989, Mémento technique de l'eau. Lavoisier, Tec. & Doc. 9ème ed. 1459p.

Denaix L., Semlali R. et Douay F., 2001, Dissolved and colloidal transport of Cd, Pb and Zn in a silt loam soil affected by atmospheric industrial deposition. Environmental Pollution, Vol. 113, pp. 29-38

Deneer J. W., 2000, Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. Pest Manag. Sci., Vol. 56, n° 6, pp. 516-520

Devillers J., 2000, Limites et perspectives des modèles en écotoxicologie. In: Club CRIN environnement et société, MATE. Modélisation en écotoxicologie. ECRIN ed. Paris. pp. 181-197

Diaz-Fierros T. F., Puerta J., Suarez J. et Diaz-Fierros V. F., 2002, Contaminant loads of CSOs at the wastewater treatment plant of a city in NW Spain. Urban Water, Vol. 4, n° 3, pp. 291-299

Dillon T. M. et Gibson A. B., 1990, Review and synthesis of bioassessment methodologies for freshwater contaminated sediments. Final Report. Vicksburg, Mississipi : Department of the Army

Do Hong L. C., 2001, Development and validation of bioassay for the ecotoxicologial risk assessment of tropical fresh water systems. Thèse. Lausanne : Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. 125 p + Annexes,

Donguy G. et Perrodin Y., 2006, Guide méthodologique d'évaluation des risques écologiques liés aux aménagements urbains et aux infrastructures de transport. Vaulx-en-Velin : LSE - ENTPE. 65p.

Donguy G. et Perrodin Y., 2007, Evaluation des risques écologiques dans le domaine des sites pollués. Définitions, concepts et usages des outils existants. version 1.0. ADEME, LSE-ENTPE52p.

Driscoll M. et Mancini M., 1979, Benefits of analysis for combined sewer overflow control. Cincinatti : USEPA48p.

Ducrot V., 2005, Compréhension et modélisation des relations entre les caractéristiques biologiques et écologiques et la sensibilité aux contaminants des communautés d'invertébrés benthiques : perspectives pour l'évaluation des effets des substances chimiques. Thèse. Spécialité : Toxicologie de l'Environnement Metz : Université de Metz, 392p.

Durand C., 2003, Caractérisation physico-chimique des produits de l'assainissement pluvial. Origine et devenir des métaux traces et des polluants organiques. Thèse. Spécialité : Chimie organique, Minérale, Industrielle et Chimie Environnementale. Poitiers : Université de Poitiers. 267p.

Durrieu C., Houssemeddine G., Berezhetskyy A. et Chovelon J.-M., Whole cell algal biosensors for urban waters monitoring. In: NOVATECH - Techniques et stratégies durables pour la gestion des eaux urbaines par temps de pluie, GRAIE. juin 2007, Lyon, 2007. pp. 1507-1514

ECB, 2003, Technical Guidance Document (TGD) in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Ispra (Italy): European Chemical Bureau. part I, II, III et IV. 1044p.

Efron B., 1981, Nonparametric estimates of standard error: The jackknife, the bootstrap and other methods. Biometrika, Vol. 68, pp. 589-599

Eganhouse R. P. et Sherblom P. M., 2001, Anthropogenic organic contaminants in the effluent of a combined sewer overflow: impact on Boston Harbor. Marine Environmental Research, Vol. 51, n° 1, pp. 51-74

EIFAC, 1980, Report on combined effects on freshwater fish and other aquatic life of mixtures of toxicants in water. EIFAC Technical report. Food and Agriculture organisation of the United Nations. Rome : CECPI. 49p.

Ek K. H., Morrison G. M. et Rauch S., 2004, Environmental routes for platinum group elements to biological materials - a review. Sci. Total Environ., Vol. 334-335, pp. 21-38

Elliott A. H., 1998, Model for preliminary catchmentscale planning of urban stormwater quality controls. Journal of Environmental Management, Vol. 52, pp. 273-288

Ellis B., Chocat B., fujita S., Rauch W. et Marsalek J., 2004, Urban Drainage: A Multilingual Glossary. IWA Publishing, United Kingdom. 512p.

Ellis J. B. et Revitt D. M., 1982, Incidence of heavy metals in street surface sediments: solubility and grain size studies. Water, Air, Soil, Pollution, Vol. 17, pp. 87-100

Ellis J. B., 1991, Measures for the control and treatment of urban runoff quality. Report n° DT/PL/FV/JB, commissioned by Agence de l'Eau Seine-Normandie. Nanterre : Agence de l'Eau Seine-Normandie. 132p.

Emmanuel E., 2004, Evaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques du Déchet. Villeurbanne et Vaulx-en-Velin: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 259p.

Emmanuel E., 2008, Evaluation des risques sanitaires liés aux mélanges chimiques contenus dans l'eau destinée à la consommation humaine - Résumé d'ouvrages et de travaux. Mémoire d'HDR. Villeurbanne, Lyon, Vaulx-en-Velin: INSA de Lyon et Université Lyon 1, LSE-ENTPE, 85p.

ENGEES/Veolia Water/Anjou Recherche, 2006, Guide technique sur le fonctionnement des déversoirs d'orage. ENGEES, Veolia Water, Anjou Recherche184p.

Environment Agency of United Kingdoms, 2003, Ecological Risk Assessment, A public consultation on a frame work and methods for assessing harm to ecosystems from contaminants soil. Bristol (UK): Environment Agency of United Kingdoms104p.

Environnement Canada, 1999, Guide des essais écotoxicologiques employant une seule espèce et interprétation de leurs résultats. SPE 1/RM/34. Ottawa : Environnement Canada, Centre de technologie environnementale, décembre 1999.

ERD, 1999, Aquatic Toxicity Reference Values (P 7.6) - Module 7: Ecological risk ; SRS (Savannah River Site). US: Environmental Restoration Division (ERD). Manual : ERD-AG-003. US : US Department of energy10p.

Eriksson E., 2002, Potential and problems related to reuse of water in households. Ph. D. thesis. Denmark : Institute of Environment and Resources, Technical University of Denmark. 51p.

Eriksson E., Baun A., Scholes L., Ledin A., Ahlman S., Revitt D., Noutsopoulos C. et Mikkelsen P. S., 2007, Selected strormwater priority pollutants - a European perspective. Science of The Total Environment, Vol. 383, pp. 41-51

Errecalde O., Seidl M. et Campbell P. G. C., 1998, Influence of a low molecular weight metabolite (citrate) on the toxicity of cadmium and zinc to the unicellular green alga *Selenastrum capricornutum*: an exception to the free-ion model. Water Research, Vol. 32, n° 2, pp. 419-429

Faust M., Altenburger R., Backhaus T., Blanck H., Boedeker W., Gramatica P., Hamer V., Scholze M., Vighi M. et Grimme L. H., 2001, Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. Aquatic Toxicol., Vol. 56, n° 1, pp. 13-32

Ferard J.-F., Vasseur P., Danoux L. et Larbaigt G., 1983, Application d'un test d'inhibition de luminescence bactérienne à l'étude toxicologique d'effluents complexes et de substances chimiques. Rev. Franç. Sciences Eau, Vol. 2, pp. 221-237

Feron V. J., Groten J. P. et Tonker D., 1995, Toxicological of chemical mixtures : challenges for today and the future. Toxicology, Vol. 105, pp. 415-427

Feron V. J., Groten J. P. et van Braden P. J., 1998, Exposure of human to complex chemical mixtures: hazard identification and risk assessment. Archives of Toxicology, Vol. 20, pp. 363-373

Feron V. J. et Groten J. P., 2002, Toxicological evaluation of chemical mixtures. Food and Chemical Toxicology, Vol. 40, pp. 825-839

Fliedner A. et Klein W., 1996, Effects of lindane on the planktonic community in freshwater microcosms. Ecotoxicol Env Saf, Vol. 33, pp. 228-235

Forbes V. E. et Forbes T. L., 1994a, Cité par Bermond M., 2002.

Forbes V. E. et Forbes T. L., 1994b, Ecotoxicology in theory and practice. UK : Eds Chapman et Hall. London. 256p.

Forbes V. E. et Forbes T. L., 1997, Ecotoxicologie - Théorie et applications. Paris : INRA Editions. 256p.

Forbes V. E. et Calow P., 2002, Extrapolation in ecological risk assessment: Balancing pragmatism and precaution in chemical controls legislation. BioScience, Vol. 52, n° 3, pp. 249-257

Frazier B. E., Naimo T. J. et Sandheinrich M. B., 1996, Temporal and vertical distribution of total ammonia nitrogen and un-ionized ammonia nitrogen in sediment pore water from the upper Mississippi river. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 15, n° 2, pp. 92-99

Fulks W. et Main K. L., Rotifer discussion group D, Production levels and requirements. In: Fulks, W. & K. L. Main (eds): Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceeding of US–Asia Workshop, Honolulu, Hawai, Jan. 28–31, 1991, Argent Laboratories, Redmond, Wash., 1991. pp. 337-340

Ganaye A., 2006, Impact d'un bassin d'infiltration d'eaux pluviales sur sa zone non-saturée - Relation entre la rétention des métaux (Pb, Zn, Cu) et les lithofaciès inhérents à la formation fluvioglaciaire de l'Est lyonnais. Master en Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain. Vaulx-en-Velin et Villeurbanne : LSE-ENTPE et INSA de Lyon, 125p.

Garnaud S., 1999, Transfert et evolution geochimique de la pollution metallique en bassin versant urbain. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques de l'Environnement. Paris: ENPC, Eaux et Forêts, Paris XII - CEREVE, 395p.

Garric J., Vindimian E. et Férard J.-F., 1993, Essais biologiques pour l'évaluation de la toxicité chronique des rejets. Agence de l'eau et et Ministère de l'Environnement112p.

Gentile J. H. et van der Schalie W. H., 2000, Hormesis and ecological risk assessment: fact or fantasy? Hum. Ecol. Risk. Assess., Vol. 6, pp. 227-236

Gentile J. H., 2001, The implications of hormesis to ecotoxicology and ecological risk assessment (ERA). BELLE Newsletter, Vol. 10, n° 1, pp. 12-13

Gersberg R. M., Daft D. et Yorkey D., 2003, Temporal pattern of toxicity in runoff from the Tijuana River watershed. Water Res., Vol. 38, pp. 559-568

Gilbin R., 2001, Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires : spéciation, biodisponibilité et toxicité. Exemple du cuivre dans les eaux de ruissellement de parcelles viticoles (Roujan, Hérault, France). Thèse - Spécialité biologie des populations et écologie. Montpellier et Genève: Université Montpellier 1 et Faculté des Sciences de l'Université de Genève, 192p.

Giuckert B. J., 1996, Toxicity assessment by community analysis. Journal of Microbiological Methods, Vol. 25, pp. 101-112

GLS, 2006, L'élimination de l'ammonium dans l'eau potable. Memotec N° 11. Toussus le Noble : GLS. 2p.

Gnouma R., 2002, Etude du fonctionnement hydrologique du bassin versant de Grézieu-La-Varenne à l'aide de traceurs isotopiques (oxygène 18). DEA Hydrologie, Hydrogéologie, Géostatistique et Géochimie. Lyon, Paris : CEMAGREF de Lyon, Université Pierre et Marie Curie, Université Paris-Sud, Ecole des Mines de Paris et Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts, 50p.

Gnouma R., 2006, Aide à la calibration d'un modèle hydrologique distribué au moyen d'une analyse des processus hydrologiques : application au bassin versant de l'Yzeron. Thèse. Génie Civil - ED MEGA Villeurbanne, Lyon : INSA de Lyon et CEMAGREF de Lyon, 413p.

Gourlay C., 2004, Biodisponibilité des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dans les écosystèmes aquatiques : Influence de la matière organique naturelle et anthropique. Thèse. Spécialité : Géosciences et Ressources Naturelles. Paris: ENGREF, 211p.

Greco W. R., Bravo G. et Parsons J. C., 1995, The search for synergy: A critical review from a response surface perspective. Pharmacol. Rev., Vol. 47, n° 2, pp. 331-385

Gromaire-Mertz M. C., 1998, La pollution des eaux pluviales urbaines en réseau d'assainissement unitaire. Caractéristiques et origines. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques de l'Environnement. Paris: ENPC, Eaux et Forêts, Paris XII - CEREVE, 477p.

Groten J. P., 2000, Mixtures and interactions. Food and Chemical Toxicology, Vol. 38, pp. S65-S71

Groten J. P., Feron V. J. et Sühnel J., 2001, Toxicology of simple and complex mixtures. Trends in Pharmacological Sciences, Vol. 22, n° 6, pp. 316-322

Guéguen C., Koukal B., Dominik J. et Pardos M., 2003, Competition between algal (*Pseudokirchneriella subcapitata*), humic substances and EDTA for Cd and Zn control in the algal assay procedure (AAP) medium. Chemosphere, Vol. 53, pp. 927-934

Gupta K. et Saul A. J., 1996, Suspended solids in combined sewer flows. Water Science and Technology, Vol. 33, n° 9, pp. 93-99

Harper P.-P. et Cloutier L., Histoire d'Eau. Site didactique d'enseignement en Entomologie et Ecologie. Encyclopédie : Ostracode. Canada : Centre d'Exposition de l'Université de Montréal. . Available on: http://www.histoiredeau.umontreal.ca/1.php (03/09/2008)

Hayet A., 2006, Variabilité des méthodologies d'évaluation des risques écologiques : conséquences et perspectives d'améliorations. Mémoire de Master Recherche en Ingénierie de la Santé. Mention : Santé - Environnement. Lille : Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé, Université du Droit et de la Santé de Lille 2. 94p.

Heaney J. P., Wright L. et Sample D., 1999, Research needs in urban wet weather flows. Water Environment Research, Vol. 71, n° 2, pp. 241-250

Hémain J. C., 1987, La pollution des eaux pluviales - de quoi parle-t-on? Journées nationales sur la Recherche et l'expérimentation sur l'eau et l'aménagement urbain du 11 et 12 juin, Atelier N°. 2 " Dépollution des eaux pluviales". pp. 9-21

Herbes S. E. et Beauchamps J. J., 1977, Toxic interaction of mixture of two coal conversesion effluent component (Resorcinol and 6-Methylquinoline) to *Daphnia magna.* Bull. Environ. Contam. Toxicol., Vol. 17, n° 1, pp. 25-32

Hermens J. L. M. et Leeuwangh P., 1982, Joint toxicity of chemicals to Guppy (Poecilia reticulata). Ecotox. Environ. Safe., Vol. 6, pp. 302-310

Hervé M., 2007, Etablissement d'un modèle conceptuel d'évaluation de l'exposition des organismes vivants d'une rivière aux polluants issus des Rejets Urbains par Temps de Pluie. TFE Vaulx-en-Velin : LSE-ENTPE, 54p.

Hickley C. W., Golding L. A., Martin M. L. et Croker G. F., 1999, Chronic toxicity of ammonia to New Zealand freshwater invertebrates : a mesocosm study. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 37, pp. 338-351

Hill A. V., 1910, The possible effects of aggregation of the molecules of hemoglobin on its dissociation curves. J. of Physiology, Vol. 40 (suppl), pp. IV-VII

House M. A., Ellis J. B., Herricks E. E., Hvitved-Jacobsen T., Seager J., Lijklema L., Aalderink H. et Clifforde I. T., 1993, Urban drainage - Impacts on receiving water quality. Water Science and Technology, Vol. 27, n° 12, pp. 117-158

Hyne R. V., Pablo F., Julli M. et Markich S. J., 2005, Influence of water chemistry on the acute toxicity of copper and zinc to the cladoceran *Ceriodaphnia* cf. *dubia.* Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 24, n° 7, pp. 1667-1675

IHSI, 2007, Inventaire des ressources et potentialités d'Haïti (2005). CDROM. Port-au-Prince (Haïti) : Institut Haïtien de Statistique et d'Informatique (IHSI), Ministère de l'Economie et des Finances

INERIS, 1999, Catalogue des concentrations prévisibles sans effet dans l'environnement aquatique (PNEC aqua) des substances chimiques existantes ayant fait l'objet d'une évaluation dans le cadre du règlement CEE n°793/93 et du programme OCDE. Paris : INERIS. 17p.

INERIS, 2003a, Evaluation de l'impact des rejets de substances toxiques sur le milieu aquatique : utilisation du rapport PEC/PNEC. Paris : INERIS. Action Nationale de Recherche et de Réduction des Rejets de Substances Dangereuses dans les Eaux. 3p.

INERIS, 2003b, Plomb et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS90p.

INERIS, 2003c, Inhibition de la croissance de la population de *Ceriodaphnia dubia*: Influence de la modification du protocole expérimental sur la validité des essais. Rapport technique. Paris: INERIS. Unité d'évaluation des risques écotoxicologique. 9p.

INERIS, 2004, Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM. Rapport technique. Paris: INERIS. Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. Direction de l'Eau. Unité « Evaluation des Risques Ecotoxicologiques ».85p.

INERIS, 2005a, Pyrène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 36p.

INERIS, 2005b, Fluorène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 38p.

INERIS, 2005c, Zinc et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 69p.

INERIS, 2005d, Phénanthrène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 37p.

INERIS, 2005e, Cadmium et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 60p.

INERIS, 2005f, Cuivre et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 66p.

INERIS, 2005g, Anthracène. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 41p.

INERIS, 2006a, Evaluation des risques sanitaires liés aux mélange de nature chimique : Perspectives dans le cadre des études d'impact sanitaire des dossiers de demande d'autorisation d'exploiter des installations classées. Paris: INERIS. 30p.

INERIS, 2006b, Nickel et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Paris: INERIS. 71p.

INERIS, 2008a, Ammonium sulphate. Fiche substance. Niveau de validation : Consensus international. Paris: INERIS2p.

INERIS, Portail Substances Chimiques : Concentrations prévues sans effet dans l'environnement (PNECsed), sédiments. Base de données environnementales. Available on: http://194.254.175.78//fr/lien/basededonnees/environnementale/recherche/cat_PNEC.php?catpnec=3&validation=0&Submit=Valider (04.11.2008)

INERIS, Portail Substances Chimiques : Concentrations prévues sans effet dans l'environnement aquatique (PNECaqua), eau douce. Base de données environnementales. Available on: http://194.254.175.78//fr/lien/basededonnees/environnementale/recherche/cat_PNEC.php?catpnec=1&validation=0&Submit=Valider (04.11.2008)

IRSN, 2004, Cadmium 109 et environnement : Fiche radionucléide. Fontenay-aux-Roses : IRSN. Direction de l'environnement et de l'intervention - Service d'étude du comportement des radionucléides dans les écosystèmes14p.

Isaure M. P., 2001, Spéciation et transfert du zinc dans un dépôt de sédiment de curage contaminé : évolution le long du profil pédologique. Thèse de Doctorat. Grenoble 1 : Université Joseph Fourier, 321p.

Isnard P., Flammarion P., Roman G., Babut M., Bastien P., Bintein S., Esserméant L., Férard J. F., Gallotti-Schmitt S., Saouter E., Saroli M., Thiébaud H., Tomassone R. et Vindimian E., 2001, Statistical analysis of regulatory ecotoxicity tests. Chemosphere, Vol. 45, n° 4-5, pp. 659-669

ISO 11466, 1995, Qualité du sol - Mise en solution pour la détermination des teneurs élémentaires totales par l'" eau régale ".

ISO/FDIS 10706, 1999, Qualité de l'eau - Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *Daphnia magna Strauss* (*Cladocera*, *Crustacea*). ISO. 22p.

Jan Stevenson R., Bothwell M. L. et Lowe R. L., Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems. San Diego : Academic Press.

Janssen C. R., Ferrando Rodrigo M. D. et Persoone G., 1993, Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus.* Hydrobiologia, Vol. 255-256, n° 1, pp. 21-32

Janssen C. R. et Persoone G., 1993, Rapid toxicity screening tests for aquatic biota: 1. Methodology and experiments with *Daphnia magna.* Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 12, pp. 711-717

Jean G., 1991, Evaluation de la toxicité aigüe de solutions synthétiques et d'effluents à partir d'un muti-test macroinvertébrés : le MTM. Comparaison des réponses des macroinvertébrés avec celles de *P. phosphoreum*, *Daphnia magna* et *Brachydanio rerio*. Thèse. Villeurbanne: INSA de Lyon - LAEPSI, 213p.

Jensen D. L. et Christensen T. H., 1999, Colloidal and dissolved metals in leachates from four danish landfills. Water Research, Vol. 33, n° 9, pp. 2139-2147

Jonker M. J., 2003, Joint toxic effects on *Caenorhabditis elegans* on the analysis and interpretation of mixture toxicity data. Thèse The Netherlands : Wageningen University and Research Centre, 136p.

Kaplan D. I., Berstch P. M. et Adriano D. C., 1995, Facilitated transport of contaminant metals through an acidified aquifer. Ground Water, Vol. 33, n° 5, pp. 708-717

Keddy C. J., Greene J. C. et Bonnell M. A., 1995, Review of whole-organism bioassays: Soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 30, n° 3, pp. 221-251

Kesslller J. et Chamraud A., 1990, La météo de la France : tous les climats localité par localité. Paris : J. C. Lattès. 391p.

Kimball K. D. et Levin S. A., 1985, Limitations of laboratory bioassays : the need for ecosystem level testing. BioScience, Vol. 35, pp. 165-171

Klaine S. J., Cobb G. P., Dickerson R. L., Dixon K. R., Kendall R. J., Smith E. E. et Solomon K. R., 1996, An ecological risk assessment for the use of the biocide, dibromonitrilopropionamide (DBNPA), in industrial cooling systems. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 15, n° 1, pp. 21-30

Kortenkamp A. et Altenburger R., 1998, Synergisms with mixtures of xenoestrogens: A reevaluation using the method of isoboles. Sci. Total Environ., Vol. 221, n° 1, pp. 59-73

Krein A. et Schorer M., 2000, Road runoff pollution by Polyciclic Aromatic Hydrocarbons and its contribution to river sediments. Water Res., Vol. 34, n° 16, pp. 4110-4115

Kreutzweiser D. P., Capell S. S. et Sousa B. C., 1995, Hexazinone effects on stream periphyton and invertebrate communities. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 14, n° 9, pp. 1521-1527

Kszos L. A., Stewart A. J. et Taylor P. A., 1992, An evaluation of nickel toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna* in a contaminated stream and in laboratory tests. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 11, n° 7, pp. 1001-1012

Kwok K. W., Leung K. M., Lui G. S., Chu V. K., Lam P. K., Morritt D., Maltby I. L., Brock T. C., Van den Brink P. J., Warne M. S. J. et Crane M., 2007, Comparison of tropical and temperate freshwater animal specie's acute sensitivities to chemicals: Implications for deriving safe extrapolation factors. Integrated Environmental Assessment and Management. SETAC, Vol. 3, n° 1, pp. 49-67

Lafont M., 1989, Contribution à la gestion des eaux continentales : utilisation des oligochètes comme descripteurs de l'état biologique et du degré de pollution des eaux et des sédiments. Thèse Lyon : Université Lyon 1, 403p.

Lafont M., 2001, A conceptual approach to the biomonitoring of freshwater: the Ecological Ambience System. Journal of Limnology, Vol. 60 Suppl., n° 1, pp. 17-24

Lafont M., Breil P., Namour P., Camus J.-C., Malard F. et Le Pimpec P., Concept d'Ambiance Ecologique dans les SYstèmes aquatics continentaux (EASY). In: Séminaire "Etat écologique des milieux aquatiques continentaux". 22-23 mars 2001, Lyon. Dpt. GMA, CEMAGREF, 2001. pp. 136-153

Lafont M. et Malard F., 2001, Oligochaete communities in the hyporheic zone of a glacial river, the Roseg River, Switzerland. Hydrobiologia, Vol. 463, pp. 75-81

Lafont M., Vivier A., Nogueira S., Namour P. et Breil P., 2006, Surface and hyporheic oligochaete assemblages in a French suburban stream. Hydrobiologia, Vol. 564, pp. 183-193

Larmet H., 2007, Mobilisation et transfert de Zn, Cd, Cu et des colloïdes bactériens dans les bas-sins d'infiltration d'eaux pluviales : Influence des conditions hydrodynamiques. Thèse. Grenoble: Université Joseph Fourier, 327p.

Le Coustumer S.-M., 2008, Colmatage et rétention des éléments traces métalliques dans les systèmes d'infiltration des eaux pluviales. Thèse. Laboratoire de Genie Civil et d'Ingénierie Environnementale (LGCIE) et Institute for Sustainable Water Ressources (ISWR) INSA de Lyon et Monash University, 426p.

Le Groupement SCP-GERSAR/SNC-Lavalin/LGL S.A., 1998, Schéma Directeur d'Assainissement pour la Région Métropolitaine de Port-au-Prince. Ministère des Travaux Publics, Transports et Communication. Port-au-Prince. Banque Mondiale, AID, Haïti.

Ledin A., Auffarth K., Boe-Hansen R., Eriksson E., Albrechtsen H. J., Baun A. et et al., 2004, Use of rainwater collected from non-permeable surfaces - identification of parameters relevant for a monitoring program (in Danish) Miljøstyrelsen, København, Vol. 48. Økologisk Byfornyelse og Spildevandsrensning, pp. 1-120

Lee J. H. et Bang K. W., 2000, Characterization of urban stormwater runoff. Water Research, Vol. 34, n° 6, pp. 1773-1780

Legret M. et Pagotto C., 1999, Evaluation of pollutant loadings in the runoff waters from a major rural highway. Sci. Total Environ., Vol. 235, pp. 143-150

Levy V., 1991, Spéciation des métaux lourds dans les eaux de ruissellement. Analyse bibliographique. Rapport Université de Pau - Lyonnaise des eaux-Dumez, Juin 1991. 25p.

Levy V. et Lara M. B., 1992, Spéciation de métaux dans les eaux de ruissellement recueillies au cours de six orages en zone urbaine à Gradignan. Rapport LCA-Lyonnaise des Eaux-Dumez, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Octobre 1992.

Lin Z., Du J., Yin K., Wang L. et Yu H., 2004, Mechanism of concentration addition toxicity : they are different for nonpolar narcotic chemicals, polar narcotic chemicals and reactive chemicals. Chemosphere, Vol. 54, pp. 1691 -1701

Loewe S. et Muischnek H., 1926, Über Kombinationswirkungen. 1. Mitteilung: Hilfsmittel der Fragestellung. Naunyn Schmiedebergs. Arch. Exp. Pathol. Pharmakol., Vol. 114, pp. 313–326

Lopes I., Moreira-Santos M., da Silva E. M., Sousa J. P., Guilhermino L., Soares A. M. V. M. et Ribeiro R., 2007, *In situ* assays with tropical cladocerans to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. Chemosphere, Vol. 67, pp. 2250-2256

Ma M., Zhu W., Wang Z. et Witkamp G. J., 2003, Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid. Aquatic Toxicology, Vol. 63, pp. 221-228

Makepeace D. K., Smith D. W. et Stanley S. J., 1995, Urban stormwater quality: summary of contaminant data. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., Vol. 25, n° 2, pp. 93-139

Mangas-Ramírez E., Sarma S. S. S. et Nandini S., 2002, Combine effects of algal (*Chlorella vulgaris*) dentity and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). Ecotox. Environ. Safe., Vol. 51, n° 3, pp. 216-222

Mankiewicz-Boczek J., Nałęcz-Jawecki G., Drobniewska A., Kaza M., Sumorok B., Izydorczyk K., Zalewski M. et Sawicki J., 2008, Application of a microbiotest battery for complete toxicity assessment of rivers. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 71, pp. 830-836

Maréchal A., 2000, Relation entre pollution particulaire et paramètres optiques dans les eaux résiduaires urbaines. Thèse. Spécialité : Génie des Procédés. Nancy: INPL (Institut National Polytechnique de Lorraine), 284p.

Marking L. L., 1977, Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures. Aquatic Tox. Hazard Eval., Vol. 634, pp. 99-108

Marking L. L., 1985, Toxicity of chemical mixtures. In: (Eds) Rand Gary M. and Petrocelli Sam R., Fundamentals of aquatic toxicology. Washington DC, USA : Hemisphere Publishing, pp. 164-176.

Marsalek J., Rochfort Q., Mayer T., Servos M., Dutka B. et Brownlee B., 1999, Toxicity testing for controlling urban wet-weather pollution: advantages and limitations. Urban Water, Vol. 1, pp. 91-103

Marsalek J., Jiménez-Cisneros B. E., Malmquist P. A., Karamouz J., Goldenfum J. et Chocat B., 2005, Urban water cycle processes and interactions. Paris: UNESCO, 6th IHP Report. 88p.

MATE, 2000, Evaluation détaillée des risques pour les écosystèmes. Gestion des sites et sols pollués, Partie 7. France: Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. France : ed. BRGM. 7p.

Mayfield C. I., 1987, cité par Samoura C. A. K., 2004.

McKee J. E. et Wolf H. W., 1971, Water quality criteria. Second Edition. Sacramento : State Water Quality Control Board. 548p.

MEDD, 2000, Gestion des sites (potentiellement) pollués. Orléans: BRGM éditions

Mercier T., 2002, Avis de la Commission d'Etude de la Toxicité concernant les mélanges de produits phytopharmaceutiques. Réponses aux questions faisant l'objet d'une saisine de la Commission par la Direction Générale de l'Alimentation. projet v10. Versailles: INRA29p.

Merlin G., Thiebaud H., Blake G., Sembiring S. et Alary J., 1992, Mesocosms and microcosms utilization for ecotoxicity evaluation of dichlorométhane, a chlorinated solvent. Chemosphere, Vol. 24, n° 1, pp. 37-50

Merlin G., Vuillod M., Lissolo T. et Clément B., 2002, Fate and bioaccumulation of isoproturon in outdoor aquatic microcosms. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 21, n° 6, pp. 1236-1242

Metcalf et Eddy, 2003a, Wastewater Engineering : Treatment, Disposal, Reuse. G. Tchobanoglous, F.L. Burton, H.D. Stensel *publisher.* 4rd ed. New-York : McGraw-Hill Inc. . 969p.

Metcalf et Eddy, 2003b, Wastewater Engineering : Treatment, Disposal, Reuse. McGraw-Hill Inc. 4rd ed. New York: G. Tchobanoglous, F.L. Burton, H.D. Stensel *publisher*. 969p.

Meyer J. S., 2002, The utility of the terms "bioavailability" and "bioavailable fraction" for metals. Marine Environmental Research, Vol. 53, pp. 417-423

MicroBioTests Inc., 2004, OSTRACODTOXKIT F™ - Chronic "direct contact" Toxicity Test for Freshwater Sediments - Standard Operational Procedure. MicroBioTests Inc. 28p.

MicroBioTests Inc., 2006, ROTOXKIT F™ Chronic - Chronic Toxicity Test for Freshwater - Standard Operational Procedure. MicroBioTests Inc. 28p.

Mikkelsen P. S., Weyer G., Berry C., Walden Y., Colandini V., Poulsen S., Grotehusmann D. et Rohlfing R., 1994, Pollution from urban stormwater infiltration. Water Science and Technology, Vol. 29, pp. 293-302

Miquel M., 2001, Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261. 360p.

Mompoint M. et Théléys K., 2004, Contribution méthodologique à l'évaluation sommaire des dangers écologiques générés par les effluents liquides urbains sur l'écosystème de la Baie de Port-au-Prince : Première approche. PFE (Projet de Fin d'Etude). LAQUE Port-au-Prince : Université Quisqueya, 61p.

Morel F. M. M., 1983, Principles of aquatic chemistry. New-York : Wiley-Interscience. 301p.

Motte B., 2008, Photo tirée de la Fiche C3-1 : La drague à main du CEMAGREF. *In* : Guide méthodologique - Caractérisation des sédiments (version 1-11/01). Dijon, Douai : Tauw Environnement, Orphys. 201-202p.

MTPTC, Projet de drainage des eaux pluviales de Port-au-Prince. Etudes complémentaires du système de drainage des eaux pluviales. Phase I : Etudes préliminaires - Données de base (Rapport). Direction des Travaux. Ministère des Travaux Publics, Transports et Communication. Port-au-Prince.

MTPTC, Projet de drainage des eaux pluviales de Port-au-Prince. Etudes complémentaires du système de drainage des eaux pluviales. Reformulation du dossier de demande de financement. Service de Construction et de Supervision. Ministère des Travaux Publics, Transports et Communication. Port-au-Prince. pp. 326

Mulliss R. M., Ellis J. B., Revitt D. M. et Shutes R. B. E., 1994, An evaluation of the toxic influences on *Asellus aquaticus* L in an urban strem environment. Water Science and Technology, Vol. 29, pp. 199-207

Mulliss R. M., Revitt D. M. et Shutes R. B. E., 1997, The impacts of discharges from two combined sewer overflows on the water quality of an urban watercourse. Water Science and Technology, Vol. 36, n° 8/9, pp. 195-199

Muyssen B. T. A. et Janssen C. R., 2001, Zinc acclimation and its effects on the zinc tolerance of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. Chemosphere, Vol. 45, pp. 507-514

Namour P., 2008, Concentrations en ion ammonium des échantillons d'eau de surface des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne. Données internes. Lyon : CEMAGREF de Lyon1p.

National Research Council, 1994, Science and Judgment in Risk Assessment. Washington DC : National Academy Press. 649p.

Neff J. M., Stout S. A. et Gunster D. G., 2005, Ecological risk assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in sediments: identifying sources and ecological hazard. Integrated Environmental Assessment and Management. SETAC, Vol. 1, n° 1, pp. 22-33

NEPC, 1999, Guideline on Ecological Assessment. Adelaide (Australia): National Environmental Protection Council45p.

Neto M., 2007, Scénarios de gestion de boues de dragage de cours d'eau : Rôle des bactéries dans la mobilité des polluants métalliques. Thèse. Spécialité : Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain. Lyon: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 312p.

Newton T. J. et Bartsch M. R., 2007, Lethal and sublethal effects of ammonia to juvenile *Lampsilis* mussels (Unionnidae) in sediment and water-only exposures. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 26, n° 10, pp. 2057-2065

NF EN 872, 1996, Qualité de l'eau - Dosage des matières en suspension : Méthode par filtration sur filtre en fibres de

verre. AFNOR. 7p.

NF EN ISO 11 885, 1998, Qualité de l'eau - Dosage de 33 éléments par spectrométrie d'émission atomique avec plasma couplé par induction.

NF EN ISO 6341 (T 90-301), 1996, Qualité de l'eau - Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss* (*Cladocera, Crustacea*) - Essai de toxicité aiguë. AFNOR. 14p.

NF EN ISO 11348-3, 1999, Qualité de l'eau - Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes) - Partie 3 : Méthode utilisant des bactéries lyophilisées. AFNOR. 21p.

NF EN ISO 15587-1, 2002, Digestion pour la détermination de certains éléments dans l'eau. AFNOR. 20p.

NF T 90-029, 1970, Essai des Eaux - Détermination des résidus secs, du résidu calciné et du résidu sulfaté. AFNOR. 4p.

NF T 90-102, 1985, Essai des Eaux - Guide pour la détermination du carbone organique total (COT). AFNOR. 7p.

NF T 90-112, 1998, Qualité de l'eau - Dosage de huit éléments métalliques (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Pb) par spectrométrie d'absorption atomique dans la flamme. AFNOR. 12p.

NF T 90-119, 1998, Qualité de l'eau - Dosage des éléments traces par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite. AFNOR.

NF T 90-375, 1998, Qualité de l'eau - Détermination de la toxicité chronique des eaux par l'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capriconutum*). AFNOR. 13p.

NF T 90-376, 2000, Qualité de l'eau - Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Ceriodaphnia dubia* en sept jours - Essai d'inhibition de la croissance de la population. AFNOR. 18p.

Nisbet M. et Verneaux J., 1970, Composants chimiques des eaux courantes : discussion et propositions e classes en tant que base d'interprétation des analyses chimiques. Annales de Limnologie, Vol. 6, n° 2, pp. 161-190

Nogueira S., 2001, Incidence des rejets urbains de temps de pluie sur les communautés d'invertébrés interstitiels (oligochètes et crustacés) d'un petit cours d'eau périurbain. CEMAGREF/BELY 42p.

Norton S. B., Rodier D. J., Gentile J. H., Van der Schalie W. H., Wood W. P. et Slimak M. W., 1992, A framework for ecological risk assessment at the EPA. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 11, pp. 1663-1672

Nygaard G., Komarek J., Kristiansen J. et Skulberg O. L., 1986, Taxonomic designations of the bioassay algal NIVA-CHL1 (*Selenastrum capricornutum*) and some related strains. Opera Botanica, Vol. 90, pp. 1-46

OCDE, 1998, Ligne Directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques - *Daphnia magna*, essai de reproduction - Ligne Directrice 211. OCDE. 22p.

Oleszczuk P., 2008, *Heterocypris incongruens* as a tool to estimate sewage sludge toxicity. Environ. Toxicol. Chem., Vol. 27, n° 4, pp. 864-872

Orczyk C., 2001, Etude du devenir de la matière organique apportée par les rejets urbains de temps de pluie dans un ruisseau périurbain : développement d'une démarche méthodologique et application à la Chaudanne. Rapport de stage. Lyon, Lille : CEMAGREF de Lyon Faculté Libre des Sciences de Lille, 81p.

Otitoloju A. A., 2002, Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.). Ecotox. Environ. Safe., Vol. 53, n° 3, pp. 404-415

Otitoloju A. A., 2003, Relevance of joint action toxicity evaluations in setting realistic environmental safe limits of heavy metals. Journal of Environmental Management, Vol. 67, pp. 121-128

Parados M., 1996, Tests écotoxicologiques avec la monoculture algale *Raphidocelis subcapitata*, le nanoplancton indigène du Léman et la bactérie *Vibrio fischeri* : développements et exemples d'applications pour la gestion des milieux aquatiques. Thèse. Spécialité : Sciences de la Terre. Genève: Université de Genève, 139p.

Parent-Raoult C., 2004, Etude en systèmes artificiels de laboratoire des effets de Rejets Urbains de Temps de Pluie sur les communautés périphytiques : influence de facteurs d'exposition. Thèse. ED : Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques. Spécialité : Ecosystèmes, Evolution, Modélisation, Microbiologie Lyon et Vaulx-en-Velin : Université Claude Bernard (UCBL), Lyon 1 et LSE-ENTPE, 297p.

Parent-Raoult C. et Boisson J.-C., 2007, Impacts des Rejets Urbains De Temps de Pluie (RUTP) sur les milieux aquatiques : Etat des connaissances. Revue des Sciences de l'Eau, Vol. 20, n° 2, pp. 229-239

Parkhurst D. L. et Appelo C. A. J., PHREEQC for Windows version 2.15.0-2697 - Batch version. 2008. http://wwwbrr.cr.usgs.gov/projects/GWC_coupled/phreeqc/

Parkinson J. et Mark O., 2006, Urban stormwater management in developing countries. London (UK) : IWA Publishing. 218p.

Parrott J. L. et Sprague J. B., 1993, Patterns in toxicity of sublethal mixtures of metal and organic chemicals determined by Microtox and by DNA, RNA and protein content of fathead minnows Pimephales promelas. Canadian Journal of Ficheries Aquatic Science, Vol. 50, n° 10, pp. 2245-2253

Perrodin Y., 1988, Proposition méthodologique pour l'évaluation de l'écotoxicité des effluents aqueux : - Mise au point d'un Multi-Test Macroinvertébrés (M.T.M.); - Application aux lixiviats de décharges et à leurs composants caractéristiques. Thèse. Spécialité : Gestion et traitement des déchets Lyon: INSA de Lyon, 135p.

Perrodin Y., Babut M., Bedell J.-P., Bray M., Clément B., Delolme C., Devaux A., Durrieu C., Garric J. et Montuelle B., 2004, Approche méthodologique de l'évaluation des risques écotoxicologiques liés à la mise en dépôt sur sol de sédiments de dragage. Déchets, Sciences et Techniques, Vol. 34, pp. 4-14

Perrodin Y., 2006, Note de synthèse sur l'évaluation des risques écotoxicologiques. Atelier prospectif Ecotox de la Division SIC de l'INSU.6p.

Persoone G., Goyvaerts M., Janssen C., De Coen W. et Vangheluwe M., 1993, Cost-effective acute hazard monitoring of polluted waters and waste dumps with the aid of toxkits. Final Report. Contract ACE 89/BE 2/D3. Commission of the European Communities. 142 p + Annexes 6p.

Pétavy F., 2007, Traitement et valorisation des sédiments de l'assainissement pluvial. Thèse. Nantes: Ecole Centrale de Nantes et Université de Nantes, 282p.

Petersen J. E., Cornwell J. C. et Kemp W. M., 1999, Implicit scaling in the design of experimental aquatic ecosystems. OIKOS, Vol. 85, n° 1, pp. 3-18

Pitt R., Field R., Lalor M. et Brown M., 1995, Urban stormwater toxic pollutants: assessment, sources, and treatability. Water Environment Research, Vol. 67, n° 3, pp. 260-275

Plackett R. L. et Hewlett P. S., 1952, Quantal reponses to mixtures of poisons. J. Royal Stat Soc, Vol. 14, pp. 141

Plagellat C., 2004, Origine et flux de biocides et de filtres UV dans les stations d'épuration des eaux usées. Thèse - Section sciences et technologie de l'environnement. Lausanne: École

Polytechnique de Lausanne - Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit - Institut des sciences et technologie de l'environnement, 222p.

Polge T., 2007, Etude de l'impact des rejets urbains par temps de pluie du réseau d'assainissement de la ville de Metz sur le milieu récepteur TFE. Strasbourg : Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et des Forêts (ENGEES) de Strasbourg et SAFEGE Ingénieurs Conseils, 80p.

Porcena Meneus G., 2007, L'observation de la terre au service du Développement Durable en Haïti. L'Espace et le Développement : le cas de GMES Afrique/Pays ACP. Lisbonne, 6 décembre 2007 30p.

PR NF ISO 20666 (T 90-334), 2007, Qualité de l'eau - Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 h. 15p.

Pratt J. R., Niederlehner B. R., Bowers N. et Cairns Jr J., 1987, Prediction of permissible concentrations of copper from microcosm toxicity tests. Toxicity Assessment : An International Quaterly, Vol. 2, pp. 417-436

Price N. M. et Morel F. M. M., 1990, Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. Nature, Vol. 344, n° 6267, pp. 658-660

R-Biopharm France, 2006, Catalogue environnement 2006 : Tarif environnement 2006.18p.

Radix P., Léonard M., Papantoniou C., Roman G., Saouter E., Gallotti-Schmitt S., Thiébaud H. et vasseur P., 2000, Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria and invertebrates assessed with sixteen chemicals. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 47, pp. 186-194

Radojevic B., Breil P. et Chocat B., 2002, Quantification du rôle de l'urbanisation en particulier et de l'usage des sols en général sur les crues de l'Yzeron. Rapport final du Programme National Risques d'Inondation, 200178p.

Ragas A. M. J., 2008, Risk assessment of mixture. Amsterdam: ATHON Mixture Toxicity Workshop, 1 April 200828p.

Ramade F., 1993, Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'environnement. Ediscience. Paris. 822p.

Ramade F., 1997, cité par Ramade F., 2007.

Ramade F., 2002, Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement. Paris : Dunod. 1075p.

Ramade F., 2007, Introduction à l'écotoxicologie. Fondements et applications. Paris : Lavoisier TEC & DOC. 618p.

Rayburn J. R., Friedman M. et Bantle J. A., 1995, Synergistic interaction of glycoalkaloids [alpha]-chaconine and [alpha]-solanine on developmental toxicity in xenopus embryos. Food & Chemical Toxicol., Vol. 33, n° 12, pp. 1013-1019

RECORD et ILIS, 2005, Evaluation des risques environnementaux : Analyse comparative des méthodologies. 04-810 1A. Villeurbanne, Lille : RECORD, Institut Lillois d'Ingénierie de la Santé (ILIS) 753p.

RECORD, 2006, Evaluation et acceptabilité des risques environnementaux. Méthodes d'évaluation, analyse comparative ; Etude sociologiques des représentations des risques, synthèse bibliographique. 04-0810//0811/1A. Villeurbanne : RECORD 227p.

Rejsek F., 2002a, Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. SCEREN - CRDP Aquitaine. Biologie technique - environnement. Bordeaux. 360p.

Rejsek F., 2002b, Analyse des eaux. Aspects réglementaires et techniques. Bordeaux : Centre régional de documentation pédologique d'Aquitaine (Biologie technique - Sciences et techniques de l'environnement). 360p.

Rier S. T. et Stevenson R. J., 2006, Response of periphytic algae to gradients in nitrogen and phosphorus in streamside mesocosms. Hydrobiologia, Vol. 561, pp. 131-147

Rivière J.-L., 1998, Evaluation du risque écologique des sols pollués. Paris : Ed TEC & DOC Lavoisier. 228p.

Rocher V., Garnaud S., Moilleron R. et Chebbo G., 2004, Hydrocarbon pollution fixed to combined sewer sediment: a case study in paris. Chemosphere, Vol. 54, pp. 795-804

Rochfort Q., Grapentine L., Marsalek J., Brownlee B., Reynoldson T., Thompson S., Milani D. et Logan C., 2000, Using benthic assessment techniques to determine combined sewer overflow and stormwater impacts in the aquatic ecosystem. Water Qual. Res. J. Canada, Vol. 35, pp. 365-397

Rodier J., Bazin C., Broutin J.-P., Chambon P., Champsaur H. et Rodi L., 1996, L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 8ème ed. Paris : DUNOD. 1384p.

Rodricks J. V., 1994, Risk assessment, the environment, and public health. Environ Health Perspect, Vol. 102, pp. 258-264

Roger S., Montrejaud-Vignoles M., Andral M. C., Herremans L. et Fortune J. P., 1998, Mineral, physical and chemical analysis of the solid matter carried by motorway runoff watter. Water Res., Vol. 32, n° 4, pp. 1119-1125

Rossi L., de Alencastro L., Kupper T. et Tarradellas J., 2004, Urban stormwater contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) and its importance for urban water systems in Switzerland. Science of The Total Environment, Vol. 322, n° 1-3, pp. 179-189

SADA, Ecological Risk Appendix B: ecological benchmarks, SADA (Spatial Analysis and Decision Assistance). Consulté le 28/07/06. Available on: http://www.tiem.utk.edu/~sada/eco_appendix_b.pdf

Saget A., 1994, Base de données sur la qualité des rejets Urbains de Temps de Pluie : Distribution de la pollution rejetée, dimensions des ouvrages d'interception. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques de l'Environnement. Noisy-Le-Grand: Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, 333p.

Samoura C. A. K., 2004, Evaluation de la toxicité de mélanges de métaux (Cd, Cr, Cu, Pb, Zn) sur l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata*. Faculté des Sciences de l'Université de Genève et Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne. Genève: Université de Genève (Institut F.-A. Forel), 58p.

Santiago S., Becker van Slooten K., Chèvre N., Pardos M., Benninghoff C., Dumas M., Thybaud E. et Garrivier F., 2002, Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques, avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. Soluval Santiago. Suisse: Soluval Santiago, Institut F.-A. Forel (Université de Genève), Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. 55p.

Sastre J., Sahuquillo A., Vidal M. et Rauret G., 2002, Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples : microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction. Analytica Chimica Acta, Vol. 462, pp. 59-72

Schiff K., Bay S. et Stansky C., 2002, Characterization, of stormwater toxicants from an urban watershed to freshwater and marine organisms. Urban Water, Vol. 4, pp. 215-227

Schwarzenbach R., Gschwend P. M. et Imboden D. M., 1993, Environmental Organic Chemistry. New-York, USA : John Wiley & Sons.

Sefrioui S. B. et Chergui H., 2002, Application de microbiotests en kits (Toxkits) dans la caractérisation de la toxicité des eaux usées de la ville de Fès (Maroc). Journal Européen d'Hydrologie, Vol. 33, n° 1, pp. 101-114

Seguin F., Leboulanger C., Rimet F., Druart J. C. et Bérard A., 2001, Effects of atrazine and nicosulfuron on phytoplankton in systems of increasing conmplexity. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 40, pp. 198-208

Seidl M., Servais P. et Mouchel J. M., 1998a, Organic matter transport and degradation in the river Seine (france) after combined sewer overflow. Water Res., Vol. 32, pp. 3569-3580

Seidl M., Viviane H. et Mouchel J. M., 1998b, Toxicity of combined sewer overflows on phytoplankton: the role of heavy metals. Environmental Pollution, Vol. 101, pp. 107-116

Sigg L., Behra P. et Stumm W., 1992, Chimie des milieux aquatiques : Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. Paris : DUNOD.

Sigg L., Behra P. et Stumm W., 2006, Chimie des milieux aquatiques : Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. 4ème édition. Paris : DUNOD. 564p.

Simon D., Helliwell S. et Robards K., 1998, Pesticide toxicity endpoints in aquatic ecosytems. J. Aquatic Ecosyst. Stress Recov., Vol. 6, pp. 159-177

Solomon K. R., Baker D. B., Richards R. P., Dixon K. R., Klaine S. J., La Point T. W., Kendall R. J., Weisskopf C. P., Giddings J. M., Giesy J. P., Hall Jr. L. W. et Williams W. M., 1996, Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. Vol. 15, n° 1, pp. 31-76

Sörme L., Bergbäck B. et Lohm U., 2001, Goods in the anthroposphere as a metal emission source - a case study of Stockholm, Sweden. Water Air Soil Pollut Focus, Vol. 1, pp. 213-227

Sourisseau S., Caractéristiques des modèles d'écosystèmes aquatiques et conséquences pour l'évaluation des risques écotoxicologiques. In: 3ème Séminaire d'Ecotoxicologie de l'INRA. 17 - 19.09.2006, Dinard, 2006. pp. 14

Sprague J. B., 1970, Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. Water Res., Vol. 4, n° 1, pp. 3-32

SSM-INRA 2004, Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés des matières fertilisantes et des supports de culture. Révision 6.5. Versailles : SSM145p.

Stebbing A. R. D., 1982, Hormesis: the stimulation of growth by low levels of inhibitors. Sci. Total Environ., Vol. 22, pp. 213-234

Stebbing A. R. D., 1998, A theory for growth hormesis. Mutation Research, Vol. 403, pp. 149-258

Suter II G. W., 1993, Ecological Risk Assessment. Chelsea : Lewis Publishers. 538p.

Suter II G. W., 2006, Ecological risk assessment. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton: Taylor & Francis Group. 643p.

Tang L., Tang X.-Y., Zhu Y.-G., Zheng M.-H. et Miao Q.-L., 2005, Contamination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in urban soil in Beinjing, China. Environment International, Vol. 31, pp. 822-828

Taub F. B., 1989, Standardized Aquatic Microcosm. Development and Testing. In: Boudou A., Rybeyre F., Aquatic Ecotoxicology: Fundamentals, Concepts and Methodologies. Boca Raton, Florida: CRC Press, Vol. 2. pp. 47-91

Trabuc P., 1989, Prise en compte de l'effet polluant des rejets urbains de temps de pluie. Recommandations pour l'élaboration ou la révision d'un schéma d'assainissement. Nanterre : Agence de Bassin Seine-Normandie45p.

Trépanier J. P., TERRASYS (CD ROM). Varennes (Quebec): SANEXEN, 2005. www.sanexen.com/fr/terrasys/index.htm

Tricot A., 1999, Le Cadmium. Paris : Encyclopaedia universalis.

Triffault-Bouchet G., 2004, Effets sur les écosystèmes aquatiques lentiques des émissions de polluants provenant de différents modes de valorisation/élimination de déchets - Application à des mâchefers d'UIOM et à des boues de dragage de canaux. Thèse. Spécialité : Biologie et Biochimie Appliquées. Chambéry, Vaux en Velin: Université de Savoie et LSE de l'ENTPE, 309p.

Truhaut R., 1977, Ecotoxicologie : objectifs, principes et perspectives. Ecotoxicol Env Saf, Vol. 1, pp. 151-173

US Army, Cartes topographiques de la couverture du territoire national (République d'Haïti) à l'échelle 1/50 000ème. Army Map Service (SX), Corps of Engineers. Disponibilité : Service de Géodésie et de Cartographie, Port-au-Prince.

US EPA, 1978, The *Selenastrum capricornutum* Printz algla assay bottle test. United States Environmental Protection Agency. Corvallis (Oregon), Rep. EPA/600/9-78/018

US EPA, 1998, Guidelines for Ecological Risk Assessment. Washington: United States Environmental Protection Agency188p.

US EPA, 1999a, Preliminary Data Summary of Urban Storm Water Best Management Practices. Environmental Protection Agency - Office of Water (4303), Washington, DC 20460.

US EPA, 1999b, 1999 Update of ambient water quality criteria for ammonia. United States Environmental Protection Agency. EPA-822-R-99-014. Office of Water. Washington, DC147p.

US EPA, 2005, National Management Measures to Control Nonpoint Source Pollution from Urban Areas. Washington: United States Environmental Protection Agency518p.

USGS, Ostracode / Ostracod. Available on: http://esp.cr.usgs.gov/info/lacs/ostracode.htm (20/11/2008)

Van den Brink P. J., Hartgers E. M., Gylstra R., Bransen F. et Brock T. C. M., 2002, Effects of a mixture of two insecticides in freshwater microcosms : II. Responses of plankton and ecological risk assessment,. Ecotoxicology, Vol. 11, n° 181-197,

van der Lee J., 1997, Modélisation du comportement géochimique et du transport des radionucléides en présence de colloïdes. Thèse de Doctorat. Paris : Ecole des Mines de Paris 200p.

Van Ewijk P. H. et Hoekstra J. A., 1993, Calculation of the EC_{50} and its confidence interval when subtoxic stimulus is present. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 25, pp. 25-32

Van Sprang Patrick A. et Janssen C. R., 2001, Toxicity identification of metals: Development of toxicity identification fingerprints. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20, n° 11, pp. 2604-2610

Verbanck M., Vanderborght J. P. et Wollast P., Size distributions of suspended particles in combined sewers during dry and wet weather. In: 5th International Conference on Urban Storm Drainage, Osaka, 1990. pp. 891-896

Verbanck M., 1992, Field investigations on sediment occurence and behaviour in brussels combined sewers. Water Science and Technology, Vol. 25, n° 8, pp. 71-82

Vesseron P., 2000, Gestion et traitement des sites pollués - annexe 9 : les tests d'écotoxicité. In: Gestion des sites pollués. Paris : BRGM. pp. 3 -10

Vighi M., Finizio A., Altenburger R., Walter H., Arrhenius A., Blanck H., Grönvall F., Backhaus T., Bödeker W., Faust M., Froehner K., Grimme L. H., Hamer V., Scholze M., Consolaro F. et Gramatica P., 2003, Water quality objectives for mixtures of toxic chemicals: Problems and perspectives. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 54, n° 2, pp. 139-150

Vindimian E., Robaut C. et Fillion G., 1983, A method for co-operative and non co-operative binding studies using non-linear regression analysis on a microcomputer. J. App. Biochem., Vol. 5, pp. 261-268

Vindimian E., REGTOX: macro Excel™ for dose-response modelling. 2003. http://eric.vindimian.9online.fr/DOC_fr_web/doc_fr_2.html

Vivier A., 2006, Caractérisation hydrogéophysique d'un dépôt fluvioglaciaire - Evaluation de l'effet de l'hétérogénéité hydrodynamique sur les écoulements en zone non-saturée. Thèse. ED MSII. Discipline : Sciences pour l'Ingénieur Strasbourg : Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 293p.

Volatier L., 2004, Réponse d'une communauté périphytique à un effluent complexe : études en bio-essais et canaux artificiels. Thèse. Spécialité : Sciences et Techniques du Déchet. Villeurbanne et Vaux-en-Velin: INSA de Lyon et LSE-ENTPE, 303p.

Volmer J., Kordel W. et Klein V., 1988, A proposed method for calculating taxonomic-group-specific variances for use in ecological risk assessment. Chemosphere, Vol. 17, pp. 1493-1500

von der Ohe P. C. et Liess M., 2004, Relative sensitivity distribution of aquatic invertebrates to organic and metal compounds. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 23, n° 1, pp. 150-156

Walter H., Consolaro F. et Gramatica P., 2002, Mixture toxicity of priority pollutants at No Observed Effect Concentration (NOECs). Ecotoxicology, Vol. 11, n° 5, pp. 299-310

Wansard G., 1999, La géochimie des éléments en traces dans la calcite des ostracodes: Principes, limites et perspectives de la méthode pour une reconstitution quantifiée des paléoenvironnements. Geobios, Vol. 32, n° 6, pp. 928-933

Wansard G., 2006, La géochimie des éléments en traces dans la calcite des ostracodes: Principes, limites et perspectives de la méthode pour une reconstitution quantifiée des paléoenvironnements. Geobios, Vol. 32, n° 6 pp. 928-933

Warne M. S. J. et Hawker D. W., 1995, The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 31, n° 1, pp. 23-28

Warne M. S. J. et Schifko A. D., 1999, Toxicity of laundry detergent components to a freshwater cladoceran and their contribution to detergent toxicity. Ecotox. Environ. Safe., Vol. 44, n° 2, pp. 196-206

Warne M. S. J., A review of the ecotoxicity of mixtures, approaches to, and recommendation for, their management. In: Langley A., Gilbey M., Kennedy B. ed., Fifth national workshop on the assessment of site contamination. Adelaide : EPHC - NEPC - en Health, 2003. pp. 253-276

Wedepohl K. H., 1995, The composition of the continental crust. Geochim Cosmochim Acta, Vol. 59, pp. 1217-1232

Wentworth C. K., 1922, A scale of grade and class terms for clastic sediments. J. Geology, Vol. 30, pp. 377-392

Whiteman F. W., Ankley G. T., Kahl M. D., Rau D. M. et Balcer M. D., 1996, Evaluation of interstitial water as a route of exposure for ammonia in sediment test with benthic macroinvertebrates. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 15, n° 5, pp. 794-801

Wu Y., Lin C. et Yuan L., 2007, Characteristics of six cladocerans in relation to ecotoxicity testing. Ecological Indicator, Vol. 7, pp. 768-775

Yang R. S., 1994, Toxicology of chemical mixtures - Case studies, Mechanisms, and novel Approaches. San Diego : Academic Press. 720p.

Yang X., Yin D., Sun H., Wang X., Dai L., Chen Y. et Cao M., 1999, Distribution and bioavailability of rare earth elements in aquatic microcosm. Chemosphere, Vol. 39, n° 14, pp. 2443-2450

Zimmermann J., Dierkes C., Göbel P., Klinger C., Stubbe H. et Coldewey W. G., Numerical modelling of long term migration and accumulation of pollutants in soil and groundwater due to stormwater infiltration. In: NOVATECH 2004, Lyon, France, 2004. pp. 1253-1260

ANNEXES

Annexe A : Fiches récapitulatives des normes et des protocoles d'essai utilisés

Annexe B : Le phénomène d'« hormèse »

Annexe C : CE_{50} obtenues pour les bioessais *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude de l'écotoxicité des polluants présents dans les RUTP

Annexe D : TI calculés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis des organismes *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude des effets combinés des polluants présents dans les RUTP

Annexe E : Données relatives aux concentrations initiales utilisées pour réaliser les calculs de spéciation pour les milieux d'essai testés vis-à-vis des organismes *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude des effets combinés des polluants présents dans les RUTP

Annexe F : CE_{20} des bioessais mis en œuvre sur l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Commune de Grézieu-La-Varenne, France)

Annexe G : Synthèse sur les essais écotoxicologiques préliminaires mis en œuvre en Haïti sur les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne (Commune de Port-au-Prince, Haïti)

Annexe H : CE_{20} des bioessais mis en œuvre en France sur des fractions congelées des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne (Commune de Port-au-Prince, Haïti)

Annexe I : Principales bases de données internationales sur la toxicité des substances

Annexe J : Concentrations en métaux dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne (Grézieu-La-Varenne, France)

Annexe K : CE_{20} des bioessais mis en œuvre sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Annexe L : Caractérisation du rejet provenant de la zone commerciale et qui se déverse dans la rivière Chaudanne (Grézieu-La-Varenne, France)

Annexe A : Fiches récapitulatives des normes et des protocoles d'essai utilisés

FICHE ESSAI DE TOXICITE CHRONIQUE - *Pseudokirchneriella subcapitata* en 72 h

Nom l'essai	:	Détermination de la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (*Selenastrum capricornutum*)
Norme, année	:	NF T 90-375, 1998
Organisme test	:	Algue verte planctonique d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* d'une préculture en phase exponentielle de croissance
Type d'essai	:	Statique (sans renouvellement de milieu)
Domaine d'application	:	Effluents aqueux industriels et urbains ; lixiviats et extraits aqueux ; eaux douces, de surface ou souterraines
Durée de l'essai	:	72 h
Récipient	:	Fioles coniques de 250 mL avec bouchons perméables à l'air, par exemple, ou microplaques
Volume de solutions d'essai par récipient	:	Fonction du type de récipient utilisé
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par la norme, de l'inhibition de la croissance algale dans les solutions mises en expérimentation. Les concentrations cellulaires de chaque récipient sont déterminées toutes les 24 h ou seulement à la fin de la période d'essai.
Mise en contact	:	10^4 cellules/mL par récipient à raison de 3 répliques par concentration testée
Critère d'effet	:	Croissance des cellules algales
Préparation de l'échantillon	:	- Homogénéisation par agitation manuelle suivie d'une décantation pendant 2 h ; - Si le surnageant de décantation est susceptible de perturber l'essai, alors procéder à une filtration à 0,45 µm ou à une centrifugation à 30 000 $m.s^{-2}$ pendant 5 mn à température ambiante.
Température de réalisation de l'essai	:	23 °C ± 2 °C
Condition d'éclairage	:	Intensité lumineuse de 60 µE/m²/s à 120 µE/m²/s ($35x10^{18}$ photons/m²/s à $70x10^{18}$ photons/m²/s) ou 6 000 lux à 10 000 lux.
Critères de validité	:	a) Concentration cellulaire des solutions témoins doit avoir été multipliée par un facteur > 32 en 72 h ; b) Pas de développement algal dans les essais témoins négatifs.
Contrôle sensibilité de l'organisme test	:	Simultanément à l'essai ou périodiquement avec du $K_2Cr_2O_7$. La CE_{50} doit être comprise : a) entre 0,45 mg/L et 1,01 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ pour essai en fioles coniques ; b) entre 0,24 mg/L et 0,60 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ pour essai en microplaques.

FICHE ESSAI DE TOXICITE AIGUE - *Daphnia magna Strauss* en 24 h / 48 h

Nom l'essai	:	Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna Strauss*
Norme, année	:	NF EN ISO 6341, 1996
Organisme test	:	*Daphnia magna* âgée de moins de 24 h obtenue par parthénogenèse
Type d'essai	:	Statique (sans renouvellement de milieu)
Domaine d'application	:	Substances chimiques, effluents industriels et urbains, eaux de surface et eaux souterraines
Durée de l'essai	:	24 h / 48 h
Récipient	:	Tubes à essais ou béchers en verre
Volume de solutions d'essai par récipient	:	10 mL
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par la norme, de la concentration initiale qui, en 24 h (48 h), immobilise 50% de *Daphnia magna* mises en expérimentation
Mise en contact	:	5 daphnies par récipient à raison de 4 répliques par concentration testée
Critère d'effet	:	Mobilité des jeunes daphnies
Préparation de l'échantillon	:	1) Substances chimiques : dissoutes ou maintenues en suspension/dispersion stable dans le milieu de dilution ; 2) Effluents industriels ou urbains : Aucune recommandation spécifique.
Température de réalisation de l'essai	:	20 °C ± 2 °C
Condition d'éclairage	:	Obscurité ou sous un cycle jour/nuit de 16 h/8h
Critères de validité	:	a) Teneur en oxygène dissous ≥ 2 mg/L en fin d'essai ; b) Pourcentage immobilisation dans les témoins ≤ 10% ; c) CE_{50}-24 h du $K_2Cr_2O_7$ comprise entre 0,6 mg/L et 1,7 mg/L.
Contrôle sensibilité de l'organisme test	:	Essai périodique avec du $K_2Cr_2O_7$ dont la CE_{50} doit être comprise entre 0,6 mg/L et 1,7 mg/L.

FICHE ESSAI DE TOXICITE SUBLETALE - *Daphnia magna Strauss* en vingt et un jours

Nom l'essai	:	Détermination de la toxicité à long terme des substances vis-à-vis de *Daphnia magna Strauss (Cladocera, Crustacea*)
Norme, année	:	ISO/FDIS 10706, 1999
Organisme test	:	*Daphnia magna* femelles âgées de moins de 24 h obtenues par parthénogenèse acyclique (conditions d'élevage définies)
Type d'essai	:	Semi-statique (au moins trois renouvellements par semaine) ou à renouvellement continu
Domaine d'application	:	Substances chimiques, effluents industriels et urbains, eaux de surface et eaux souterraines
Durée de l'essai	:	21 j
Récipient	:	Tubes à essais ou béchers en verre propres et non contaminés
Volume de solutions d'essai par récipient	:	50 mL ou 100 mL
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par la norme, du nombre de mères survivantes et du nombre de descendants vivants à la fin de l'essai. Les données obtenues permettront d'estimer le % d'inhibition de la survie des mères et le % d'inhibition de la reproduction par rapport au lot témoin, la LOEC, la NOEC.
Mise en contact	:	1 jeune daphnie par récipient à raison de 10 répliques par concentration testée dans le cas d'un essai semi-statique
Critère d'effet	:	Survie des mères ; nombre de descendants vivants ; capacité reproductrice des mères
Préparation de l'échantillon	:	1) Substances chimiques : dissoutes ou maintenues en suspension ou en dispersion stable ; 2) Echantillons d'eau ou effluents : conservés conformément à l'ISO 5667-16.
Température de réalisation de l'essai	:	Température solutions d'essai maintenue entre [18 °C , 22 °C] ± 2 °C
Condition d'éclairage	:	Sous un cycle jour/nuit de 16 h/8 h ; intensité de préférence comprise entre 600 et 800 lux mais ne doit pas être > 1200 lux
Critères de validité	:	a) Nombre total d'adultes morts et de mâles dans les récipients témoins à la fin de l'essai doit être ≤ 20% ; b) Nombre moyen de descendants vivants par mère vivante dans les récipients témoins doit être ≥ 60 ; c) Coefficient de variance du contrôle de fécondité, basé sur le nombre de descendants par mère par jour, doit être ≤ 20% dans les récipients témoins.

FICHE ESSAI DE TOXICITE CHRONIQUE - *Ceriodaphnia dubia* en sept jours

Nom l'essai	:	Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Ceridaphnia dubia* en sept jours
Norme, année	:	NF T 90-376, 2000
Organisme test	:	*Ceriodaphnia dubia* âgée de moins de 24 h obtenue par parthénogenèse
Type d'essai	:	Semi-statique - quatre renouvellements des solutions d'essai et des témoins
Domaine d'application	:	Substances chimiques, effluents industriels ou urbains, eaux douces, lixiviats et éluats
Durée de l'essai	:	7 j
Récipient	:	Récipients en matériau chimiquement inerte et de capacité suffisante
Volume de solutions d'essai par récipient	:	50 mL
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par la norme, de la mortalité des mères et de la reproduction pendant la durée d'exposition. Les données obtenues permettront d'estimer le % d'inhibition de la croissance de la population et le % d'inhibition de la reproduction par rapport au lot témoin
Mise en contact	:	1 animal par récipient à raison de 10 répliques par concentration testée
Critère d'effet	:	Mortalité des mères ; reproduction ; croissance de la population
Préparation de l'échantillon	:	1) Substances chimiques : dissoutes ou maintenues en suspension ou en dispersion stable ; 2) Effluents industriels ou urbains : • Homogénéisation par agitation manuelle suivie d'une décantation pendant 2 h, si nécessaire ; • Utilisation d'échantillon brut ou décanté ; filtré ou centrifugé, si l'échantillon est susceptible de perturber l'essai.
Température de réalisation de l'essai	:	25 °C ± 1 °C dans les récipients d'essai
Condition d'éclairage	:	Sous un cycle jour/nuit de 16 h/8 h ; intensité lumineuse au niveau de l'interface air/eau ≤ 300 lx
Critères de validité	:	a) Mortalité des mères dans le lot témoin au $7^{ème}$ jour doit être < 20% ; b) Proportion de mâles dans la génération parentale au $7^{ème}$ jour doit être ≤ 20% ; c) Au moins 60% des mères vivantes au $7^{ème}$ jour dans le lot témoin doivent avoir pondu un minimum de 3 portées ; d) Nombre moyen de jeunes nés par mère vivante dans le lot témoin doit être ≥ 15.
Contrôle sensibilité de l'organisme test	:	Essai périodique ou simultané avec du pentachlorophénate de sodium (C_6Cl_5ONa) et/ou du sulfate de cuivre pentahydraté ($CuSO_4$, $5H_2O$).

FICHE ESSAI DE TOXICITE AIGUE - Luminescence de *Vibrio fischeri* en 15 mn et 30 mn (Phase liquide)

Nom l'essai	:	Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai bactéries luminescentes)
Norme, année	:	NF EN ISO 11348-3, 1999
Organisme test	:	Bactéries luminescentes appartenant à l'espèce *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Les suspensions utilisées sont fraîchement préparées à partir de réactifs lyophilisés disponibles dans le commerce, conservés au congélateur entre -18 °C et -20 °C.
Type d'essai	:	Statique
Domaine d'application	:	Eaux usées ; extraits et lixiviats aqueux ; eaux douces (de surface ou souterraine) ou eaux salées et saumâtres ; eaux interstitielles.
Durée de l'essai	:	15 mn et 30 mn d'incubation
Récipient	:	Tubes à essai adaptés au luminomètre choisi (Microtox®)
Volume de solutions d'essai par récipient	:	1 mL
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par la norme, de l'inhibition de la luminescence produite par des cultures de *V. fischeri.* L'essai est mis en œuvre par mélange de volumes spécifiés de l'échantillon à analyser, ou de l'échantillon dilué, et des bactéries luminescentes mises en suspension dans une cuve de mesure. Les valeurs de CE sont déterminées par application d'un facteur de correction (f_{kt}), calculé à partir des témoins, aux valeurs d'intensité de luminescence mesurée par le luminomètre.
Mise en contact	:	10 µL de suspension mère à 1 mL
Critère d'effet	:	Diminution de la luminescence des bactéries
Préparation de l'échantillon	:	- Homogénéisation par agitation manuelle suivie d'une décantation pendant 1 h si l'échantillon présente une forte turbidité ou bien de le centrifuger (10 mn à 5000 g), ou encore de le filtrer ; - Ajouter 20 g de NaCl/L d'échantillon d'eau ou d'échantillon d'eau neutralisé ; - Cas échantillon saumâtre ou salin : mesurer la salinité et ajuster l'osmolarité (≤ 35 g NaCL/L) par ajout de la quantité nécessaire de NaCl.
Température de réalisation de l'essai	:	3 °C ± 3 °C pour la conservation de la suspension mère ; 15 °C ± 1 °C pour l'incubation de l'essai et la cellule de mesure du luminomètre
Critères de validité et sensibilité organisme test	:	a) La valeur de f_{kt} pour un temps d'incubation de 30 mn est comprise entre 0,6 et 1,8 ; b) L'écart pour les déterminations effectuées en double doit être ≤ 3% de leur moyenne ; c) Les trois substances de référence provoquent une inhibition comprise en 20% et 80% après un temps de contact de 30 mn aux concentrations suivantes : 1) Sulfate de zinc heptahydraté ($ZnSO_4$, $7H_2O$) : 2,2 mg/L de Zn^{2+} ; 2) 3,5-Dichorophénol ($C_6H_4OCl_2$) : 3,4 mg/L de 3,5-dichlorophénol ; 3) Dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) : 18,7 mg/L de Cr^{6+}.

FICHE ESSAI DE TOXICITE AIGUE - Microtox® phase solide « Basic Solid-Phase Test (BSPT) » avec I_0 (avec lecture de luminescence de départ)

Nom l'essai	:	Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons de sol ou de sédiment sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai bactéries luminescentes)
Protocole	:	Basic Solid-Phase Test (BSPT) procedure (protocole fournisseur)
Organisme test	:	Bactéries luminescentes appartenant à l'espèce *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Les suspensions utilisées sont fraîchement préparées à partir de réactifs lyophilisés disponibles dans le commerce, conservés au congélateur entre -18 °C et -20 °C.
Type d'essai	:	Statique
Domaine d'application	:	Echantillon solide (sol, sédiment, particules ou matière en suspension) de milieu dulçaquicole, marin ou d'un estuaire.
Durée de l'essai	:	20 mn d'incubation
Récipient	:	Tubes à essai adaptés au luminomètre choisi (Microtox®)
Volume de solutions d'essai par récipient	:	1 mL
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par le protocole du SPT, de l'inhibition de la luminescence produite par des suspensions de *V. fischeri* par rapport à la luminescence initiale. L'essai est mis en œuvre par mélange de volumes spécifiés d'une gamme de dilutions de l'échantillon à analyser, et des bactéries luminescentes mises en suspension dans une cuve de mesure. Les valeurs de CE sont déterminées par application d'un facteur de correction (f_{kt}), reflétant l'évolution de la luminescence du témoin sans échantillon, aux valeurs d'intensité de luminescence mesurées pour chaque dilution par le luminomètre.
Mise en contact	:	10 µL de suspension mère à 1 mL de dilution pour essai
Critère d'effet	:	Diminution de la luminescence des bactéries
Préparation de l'échantillon	:	- Homogénéisation de l'échantillon ; - Transférer l'équivalent de 7 g d'échantillon dans un bécher de 50 mL et ajouter le volume de diluant approprié (en fonction de la provenance de la matrice testée : milieu d'eau douce, marin ou estuaire) pour un volume total de 35 mL de liquide. Placer le mélange sous agitation magnétique pendant 10 mn ; - Réaliser la gamme de dilution dans les tubes à essai compatibles avec le luminomètre.
Température de réalisation de l'essai	:	3 °C ± 3 °C pour la conservation de la suspension mère ; 15 °C ± 1 °C pour l'incubation de l'essai et la cellule de mesure du luminomètre
Critères de validité et sensibilité organisme test	:	Aucune recommandation spécifique mais les critères spécifiés dans la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] peuvent être adoptés (sensibilité de la souche à différentes substances de référence et décroissance lumineuse dans le témoin sans échantillon).

FICHE ESSAI DE TOXICITE AIGUE - Microtox® phase solide ou « Solid-Phase Test (SPT) » sans I_0 (sans lecture de luminescence de départ)

Nom l'essai	:	Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons de sol ou de sédiment sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai bactéries luminescentes)
Protocole	:	Solid-Phase Test (SPT) procedure (protocole fournisseur)
Organisme test	:	Bactéries luminescentes appartenant à l'espèce *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Les suspensions utilisées sont fraîchement préparées à partir de réactifs lyophilisés disponibles dans le commerce, conservés au congélateur entre -18 °C et -20 °C.
Type d'essai	:	Statique
Domaine d'application	:	Echantillon solide (sol, sédiment, particules ou matière en suspension) de milieu dulçaquicole, marin ou d'un estuaire.
Durée de l'essai	:	20 mn d'incubation
Récipient	:	Tubes à essai adaptés au luminomètre choisi (Microtox®)
Volume de solutions d'essai par récipient	:	1,5 mL d'échantillon dans chaque puits d'incubation ; 500 µL de suspension d'essai dans les puits de mesure
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par le protocole du SPT, de l'inhibition de la luminescence produite par des suspensions de *V. fischeri* au contact d'une gamme de dilutions de l'échantillon (sans référence à une luminescence initiale). L'essai est mis en œuvre par mélange de volumes spécifiés d'une gamme de dilutions de l'échantillon à analyser, et des bactéries luminescentes mises en suspension dans une cuve de mesure. Les valeurs de CE sont déterminées sur la base de l'abattement des valeurs d'intensité de luminescence mesurées pour chaque dilution par le luminomètre par rapport à la luminescence du témoin sans échantillon.
Mise en contact	:	20 µL de suspension mère de bactéries à 1,5 mL d'échantillon selon le mode préparatoire indiqué (voir « préparation de l'échantillon »)
Critère d'effet	:	Diminution de la luminescence des bactéries
Préparation de l'échantillon	:	- Homogénéisation de l'échantillon ; - Transférer 7 g d'échantillon dans un bécher de 50 mL et ajouter 35 mL du diluant approprié (en fonction de la provenance de la matrice testée : milieu d'eau douce, marin ou estuaire). Placer le mélange sous agitation magnétique pendant 10 mn ; - Réaliser la gamme de dilution dans des tubes à essais appropriés placés dans un incubateur équipé d'un bain-marie à 15 °C ± 1 °C ; rajouter la suspension de bactéries et laisser incuber pendant 20 mn ; - Filtrer chaque tube, après homogénéisation à la pipette, au moyen des filtres spéciaux pour les tubes du Microtox® Solid-Phase Test. L'essai est réalisé avec 500µl de filtrat (suspension échantillon et bactéries), de chaque concentration de la gamme, transféré dans les tubes correspondants se trouvant dans le luminomètre.
Température de réalisation de l'essai	:	3 °C ± 3 °C pour la conservation de la suspension mère ; incubation de l'essai au moyen d'un incubateur équipé d'un bain-marie à 15 °C ± 1 °C ; 15 °C ± 1 °C pour les cellules d'essai et la cellule de mesure du luminomètre
Critères de validité et sensibilité organisme test	:	Aucune recommandation spécifique mais les critères spécifiés dans la norme NF EN ISO 11348-3 [1999] peuvent être adoptés (sensibilité de la souche à différentes substances de référence et décroissance lumineuse dans le témoin sans échantillon).

FICHE ESSAI DE TOXICITE CHRONIQUE - *Brachionus calyciflorus* en 48 h ou « ROTOXKIT F® CHRONIC : Chronic Toxicity Test for Freshwater »

Nom l'essai	:	Essai de toxicité chronique vis-à-vis du rotifère d'eau douce *Brachionus calyciflorus* - Essai d'inhibition de la croissance de la population
Protocole	:	ROTOXKIT F® manuel standard des procédures opérationnelles pour l'essai chronique (protocole fournisseur)
Organisme test	:	*Brachionus calyciflorus* femelles nouveau-nées issus de sporocystes lyophilisés disponibles dans le commerce, conservés au réfrigérateur, à l'obscurité, à 5 °C ± 2 °C.
Condition d'éclosion des sporocystes	:	Incubation des sporocystes, dans du Milieu Standard préalablement aéré pendant 15 mn au moins, avant le début de l'essai. L'incubation se fait pendant 16 à 18 heures sous éclairage continu (3000 - 4000 lux) et à 25 °C. Les nouveau-nés sont nourris 2 heures avant la mise en route de l'essai avec une goutte de suspension de Roti-Rich.
Type d'essai	:	Statique (sans renouvellement de milieu)
Domaine d'application	:	Substances chimiques, rejets liquides, effluents, eaux de surface, eaux souterraines, eaux interstitielles de sédiments, lixiviats de sol ou de déchets, …
Durée de l'essai	:	48 h
Récipient	:	Microplaques multi-puits spéciaux en polycarbonate
Volume de solutions d'essai par récipient	:	1 mL par puits d'essai
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par le protocole d'essai, après 48 h d'incubation, du % d'inhibition de la croissance de la population de rotifères mis en expérimentation par rapport à une population témoin sans échantillon. Les organismes sont nourris avec une suspension d'algues vertes au début de l'essai.
Mise en contact	:	1 rotifère nouveau-né (âgé de 16 à 18 heures) par puits à raison de 8 répliques par concentration testée
Critère d'effet	:	Croissance de la population
Préparation de l'échantillon	:	1) Substances chimiques : dissoutes ou maintenues en suspension ou en dispersion stable ; 2) Effluents et éluats : il est recommandé de centrifuger l'échantillon (10 000 g ou 15 000 g pendant 15 mn) ou filtration sur filtre en fibre de verre de porosité ≤ 1 µm)
Température de réalisation de l'essai	:	25 °C
Condition d'éclairage	:	Obscurité
Critères de validité	:	a) la reproduction des rotifères doit être effective dans au moins 7 des 8 puits du témoin ; b) le taux de croissance moyen (r) de la population témoin doit être au moins de 0,55, soit un nombre moyen de 3 rotifères vivantes pour le témoin ; c) le pourcentage d'effet dans la plus faible concentration du toxique testé doit être < 50%.
Contrôle sensibilité de l'organisme test	:	Essai périodique (à chaque 5 ou 10 essais) avec du $K_2Cr_2O_7$ dont la CE_{50} doit être comprise dans l'intervalle de confiance à 95% indiquée sur la fiche de spécification individuelle de la série de rotifères concernée (environ 3,5 à 6,5 mg/L).

FICHE ESSAI DE TOXICITE CHRONIQUE - *Heterocypris incongruens* en 6 j ou « OSTRACODTOXKIT F™ : Chronic « Direct Contact » Toxicity Test for Freshwater Sediments »

Nom l'essai	:	Essai de toxicité chronique vis-à-vis de l'ostracode de sédiment dulçaquicole *Heterocypris incongruens* - Mortalité et inhibition de la croissance des crustacés
Protocole	:	OSTRACODTOXKIT F™ manuel standard des procédures opérationnelles pour l'essai chronique (protocole fournisseur)
Organisme test	:	*Heterocypris incongruens* nouveau-nés issus de sporocystes lyophilisés disponibles dans le commerce, conservés au réfrigérateur, à l'obscurité, à 5 °C ± 2 °C.
Condition d'éclosion des kystes	:	Incubation des sporocystes, dans une boîte de pétri contenant 10 mL de Milieu Standard (préalablement aéré pendant 15 mn au moins, avant le début de l'essai). L'incubation se fait pendant 52 heures, sous éclairage continu (3000 - 4000 lux) et à 25 °C. L'alimentation est introduite dans la boite de pétri 48 heures après la mise en route de l'incubation (poudre de Spiruline remise en suspension dans du Milieu Standard).
Type d'essai	:	Statique
Domaine d'application	:	Sédiment dulçaquicole
Durée de l'essai	:	6 j
Récipient	:	Microplaques de 6 puits (36 mm de diamètre) en polystyrène
Volume de l'échantillon testé par récipient	:	1 mL de sédiment par puits de mise en contact auquel on rajoute 2 mL de Milieu Standard et de 2 mL de suspension algale ; soit un ratio sédiment/eau de 1 : 4
Principe de l'essai	:	Détermination, dans les conditions définies par le protocole d'essai, après 6 j d'incubation, de la mortalité et du % d'inhibition de la croissance des ostracodes vivants en fin d'essai
Mise en contact	:	10 ostracodes nouveau-nés par puits à raison de 6 répliques par échantillon testé. La taille moyenne d'un lot d'ostracodes nouveau-nés est mesurée avant le début de l'essai.
Critère d'effet	:	Mortalité et Croissance des organismes
Préparation de l'échantillon	:	Sédiment : Aucune recommandation spécifique
Température de réalisation de l'essai	:	25 °C
Condition d'éclairage	:	Obscurité
Critères de validité	:	a) le % moyen de mortalité des ostracodes dans le témoin avec le sédiment de référence doit être ≤ 20% ; b) l'augmentation moyenne de la longueur des ostracodes dans le témoin avec le sédiment de référence doit être ≥ 20%.
Contrôle sensibilité de l'organisme test	:	Aucune recommandation spécifique.

Annexe B : Le phénomène d'« hormèse »

PRESENTATION DU PHENOMENE D'HORMESE ET QUELQUES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES SUR CE PHENOMENE

Le phénomène d'Hormèse (Hormesis en anglais) résulte en une amélioration des performances et/ou de l'état d'un organisme en réponse à des niveaux d'exposition faibles à un polluant (autre qu'un nutriment) qui, à des niveaux supérieurs d'exposition, est toxique [ADEME, 2002a]. En d'autres termes, la substance exerce un effet légèrement stimulant à faible concentration [Environnement Canada, 1999], par rapport au comportement de l'organisme test dans le milieu d'essai sans toxique (récipient témoin) [Stebbing, 1982] ; [Christofi *et al.*, 2002].

Ce phénomène est connu en santé humaine et dans le domaine environnemental. Plusieurs auteurs et chercheurs ont déjà produit des travaux de recherche sur ce phénomène. A travers cette riche littérature on retrace de nombreuses théories qui sont développées en vue d'expliquer, de comprende ce phénomène. Certaines de ces théories mettent en avant le phénomène de complexation, d'autres l'expliquent par une phénomène de surcompensation ([Calabrese, 1999]) et bien d'autres encore sont citées par Christofi *et al.* [2002]. D'autres chercheurs ([Chapman, 2002] ; [Gentile, 2001] ; [Gentile et van der Schalie, 2000]) se sont intéressés à son implication dans le processus d'évaluation des risques.

L'hormèse est un phénomène relativement fréquent en écotoxicologie [Ducrot, 2005]. La littérature relate que certains métaux (tel que le cuivre [De Schamphelaere et Janssen, 2004]) ou certains pesticides ([Calabrese, 1999]) provoquent une amélioration de la survie, de la croissance et/ou de la reproduction lorsqu'ils sont présents à de faible dose dans le milieu. Les effets délétères sur ces mêmes paramètres n'apparaissent que lorsque le produit est présent à des concentrations élevées dans le milieu. Christofi et al. [Christofi *et al.*, 2002] ont mis en évidence des phénomène d'hormèse vis-à-vis de la bactérie *V. fischeri*.

La courbe concentration-réponse obtenue dans de pareille situation n'est plus de type log-linéaire [Ducrot, 2005]. L'hormèse conduit donc à l'obtention d'une courbe dose-réponse spéciale de type bi-phasique [Calabrese, 2008], dont un exemple est présenté au moyen de la **Figure 66**.

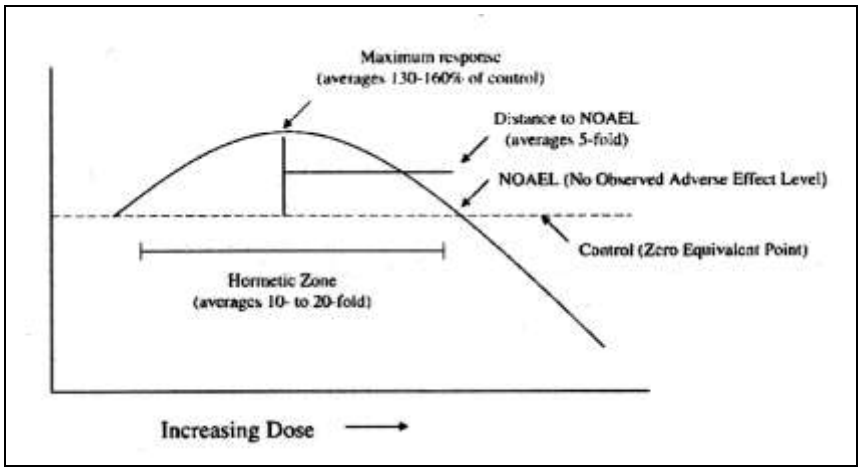


Figure 66 **: Courbe décrivant différents aspects du phénomène d'hormèse (caractèristique quantitative, magnitude, …) [Calabrese, 2008]**

Des méthodes statistiques ([Van Ewijk et Hoekstra, 1993]) ont été mises au point afin de pouvoir en tenir compte lors du calcul des concentrations efficaces (CE_{50}, …) [Ducrot, 2005] ainsi que des macros existantes (comme REGTOX, sur la base d'entretiens personnels avec E. Vindimian) peuvent également être adaptées pour prendre en compte ce phénomène, notamment en écotoxicologie.

Les phenomènes d'hormèse observés dans le cadre de cette étude devront donc faire l'objet d'études additionnelles.

Pour avoir plus de détails sur ce phénomène, le lecteur peut consulter les références suivantes (liste non exhaustive) : [Stebbing, 1998] ; [Calabrese et Baldwin, 2000] ; [Calabrese et Baldwin, 2002] ; [Chapman, 2002] ; [Suter II, 2006] ; [Ramade, 2007] ; [Calabrese, 2008].

Annexe C : CE_{50} obtenues pour les bioessais *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude de l'écotoxicité des polluants présents dans les RUTP

ESSAI *Daphnia magna* 24h - COMPILATION DES VALEURS DE CE_{50} CALCULEES

No.	Solutions / Mélanges binaires testés	CE_{50}	IC 95	
			Inf.	Sup.
		mg/L	mg/L	mg/L
1	$Cd(NO_3)_2$	1,43	1,26	1,61
2	$Cu(NO_3)_2$	0,11	0,10	0,12
3	$Pb(NO_3)_2$	139,46	124,58	153,44
4	$Zn(NO_3)_2$	40,43	34,47	47,17
5	$(NH_4)_2SO_4$	947,97	915,81	987,83
6	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,06	0,05	0,08
7	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,08	0,07	0,09
8	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,09	0,08	0,11
9	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,10	0,09	0,12
10	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,17	0,15	0,19
11	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	16,52	15,27	18,45
12	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	9,38	8,29	10,52
13	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	3,78	3,55	4,08
14	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	2,13	1,76	2,67
15	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	1,72	1,51	1,90
16	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cd(NO_3)_2$	1,75	1,60	1,89
17	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cd(NO_3)_2$	1,68	1,48	1,87
18	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	1,76	1,42	2,29
19	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cd(NO_3)_2$	4,12	3,32	5,34
20	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cd(NO_3)_2$	4,46	2,98	6,69
21	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,06	0,05	0,07
22	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,06	0,05	0,07
23	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,11	0,09	0,12
24	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,11	0,10	0,12
25	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,29	0,26	0,33
26	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	47,67	43,07	52,43
27	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	35,65	32,48	38,68
28	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	101,33	85,58	120,36
29	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	111,82	93,57	131,03
30	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	93,27	82,55	103,85
31	20% $Zn(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,06	0,05	0,07
32	40% $Zn(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,10	0,09	0,11
33	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,13	0,11	0,16
34	60% $Zn(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,14	0,13	0,16
35	80% $Zn(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,29	0,27	0,32
36	20% $(NH_4)_2SO4$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,05	0,04	0,05
37	40% $(NH_4)_2SO4$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,07	0,06	0,07
38	50% $(NH_4)_2SO4$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,05	0,05	0,06
39	60% $(NH_4)_2SO4$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,11	0,09	0,14
40	80% $(NH_4)_2SO4$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,23	0,21	0,26

Légende :

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

ESSAI Pseudokirchneriella subcapitata (Ps) 72h - COMPILATION DES VALEURS DE CE_{50} CALCULEES

No.	Solutions / Mélanges binaires testés	CE_{50}	IC 95	
			Inf.	Sup.
		µg/L	µg/L	µg/L
1	$Cd(NO_3)_2$	97,71	72,89	109,28
2	$Cu(NO_3)_2$	77,90	69,50	86,20
3	$Pb(NO_3)_2$	92,91	86,14	99,35
4	$Zn(NO_3)_2$	347,04	258,75	425,74
5	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	98,50	93,85	102,39
6	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	97,33	77,94	108,44
7	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	103,75	96,49	111,73
8	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	114,70	103,45	122,24
9	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	101,57	89,99	112,26
10	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	185,73	162,97	210,14
11	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	167,01	148,20	181,69
12	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	137,75	125,07	149,04
13	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	109,88	101,85	118,96
14	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	108,80	96,42	117,32
15	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cd(NO_3)_2$	100,18	93,70	106,17
16	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cd(NO_3)_2$	87,10	73,69	96,40
17	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	103,13	94,68	112,45
18	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cd(NO_3)_2$	94,18	87,04	100,98
19	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cd(NO_3)_2$	73,06	63,67	79,94
20	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	95,13	92,26	97,21
21	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	94,57	90,25	99,24
22	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	88,18	79,24	94,10
23	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	108,53	101,05	114,31
24	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	85,51	75,81	95,05
25	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	131,56	119,55	145,55
26	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	86,12	80,05	91,72
27	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	98,60	86,64	104,68
28	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	99,57	93,90	104,91
29	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	89,19	82,23	94,74
30	20% $Zn(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	98,60	92,90	103,24
31	40% $Zn(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	116,21	108,16	121,75
32	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	113,55	100,62	133,39
33	60% $Zn(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	139,36	132,26	145,19
34	80% $Zn(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	195,81	186,25	205,28

Légende :

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

Annexe D : TI calculés pour les mélanges binaires testés vis-à-vis des organismes *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude des effets combinés des polluants présents dans les RUTP

ESSAI *Daphnia magna* 24h - COMPILATION DES VALEURS DE TI CALCULEES

No.	Mélanges binaires	TI	IC 95	
			Inf.	Sup.
1	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,45	0,34	0,62
2	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,44	0,37	0,53
3	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,42	0,33	0,56
4	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,41	0,33	0,53
5	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,39	0,31	0,51
6	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	2,64	2,16	3,36
7	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	2,77	2,17	3,52
8	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	1,37	1,14	1,68
9	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	0,92	0,67	1,30
10	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	0,97	0,76	1,22
11	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cd(NO_3)_2$	0,98	0,80	1,20
12	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cd(NO_3)_2$	0,71	0,56	0,90
13	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	0,62	0,45	0,92
14	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cd(NO_3)_2$	1,17	0,84	1,72
15	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cd(NO_3)_2$	0,65	0,39	1,10
16	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,41	0,31	0,55
17	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,32	0,27	0,40
18	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,47	0,37	0,61
19	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,41	0,34	0,49
20	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,52	0,43	0,65
21	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	1,01	0,79	1,30
22	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	0,63	0,50	0,80
23	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	1,62	1,19	2,23
24	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	1,59	1,16	2,15
25	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	1,00	0,78	1,27
26	20% $Zn(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,44	0,35	0,57
27	40% $Zn(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,54	0,44	0,67
28	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,59	0,46	0,79
29	60% $Zn(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,51	0,42	0,64
30	80% $Zn(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,52	0,44	0,64
31	20% $(NH_4)_2SO4$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	0,33	0,27	0,42
32	40% $(NH_4)_2SO4$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	0,35	0,29	0,44
33	50% $(NH_4)_2SO4$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,24	0,20	0,30
34	60% $(NH_4)_2SO4$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,39	0,28	0,56
35	80% $(NH_4)_2SO4$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,41	0,34	0,51

Légende :

TI : Toxicity Index

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

ESSAI Pseudokirchneriella subcapitata (Ps) 72h - COMPILATION DES VALEURS DE TI CALCULEES

No.	Mélanges binaires	TI	IC 95	
			Inf.	Sup.
1	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	1,21	1,04	1,46
2	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	1,15	0,83	1,53
3	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	1,20	1,00	1,57
4	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	1,29	1,05	1,71
5	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	1,09	0,87	1,55
6	20% $Cd(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	0,81	0,60	1,23
7	40% $Cd(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	0,97	0,75	1,42
8	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	0,90	0,72	1,31
9	60% $Cd(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	0,80	0,65	1,16
10	80% $Cd(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	0,95	0,75	1,38
11	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cd(NO_3)_2$	1,04	0,87	1,41
12	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cd(NO_3)_2$	0,91	0,70	1,24
13	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	1,08	0,91	1,42
14	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cd(NO_3)_2$	0,99	0,84	1,26
15	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cd(NO_3)_2$	0,78	0,63	0,96
16	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	1,18	1,04	1,34
17	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	1,14	0,99	1,32
18	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	1,04	0,86	1,22
19	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	1,26	1,08	1,45
20	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,96	0,79	1,16
21	20% $Pb(NO_3)_2$ + 80% $Zn(NO_3)_2$	0,59	0,46	0,79
22	40% $Pb(NO_3)_2$ + 60% $Zn(NO_3)_2$	0,52	0,43	0,64
23	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	0,67	0,54	0,81
24	60% $Pb(NO_3)_2$ + 40% $Zn(NO_3)_2$	0,76	0,65	0,89
25	80% $Pb(NO_3)_2$ + 20% $Zn(NO_3)_2$	0,82	0,70	0,95
26	20% $Zn(NO_3)_2$ + 80% $Cu(NO_3)_2$	1,07	0,91	1,27
27	40% $Zn(NO_3)_2$ + 60% $Cu(NO_3)_2$	1,03	0,85	1,24
28	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,89	0,70	1,22
29	60% $Zn(NO_3)_2$ + 40% $Cu(NO_3)_2$	0,96	0,80	1,17
30	80% $Zn(NO_3)_2$ + 20% $Cu(NO_3)_2$	0,95	0,78	1,22

Légende :

TI : Toxicity Index

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

Annexe E : Données relatives aux concentrations initiales utilisées pour réaliser les calculs de spéciation pour les milieux d'essai testés vis-à-vis des organismes *Daphnia magna* et *Pseudokirchneriella subcapitata* dans le cadre de l'étude des effets combinés des polluants présents dans les RUTP

ESSAI *Daphnia magna* 24h - COMPILATION DES CONCENTRATIONS UTILISEES POUR LES CALCULS DE SPECIATION

No.	Solutions	Concentrations initiales de la gamme de dilutions testée	
		Plus forte concentration de la gamme	Plus faible concentration de la gamme
		mg de sel/L	mg de sel/L
1	$Cd(NO_3)_2$	4,20	0,55
2	$Cu(NO_3)_2$	0,20	0,036
3	$Pb(NO_3)_2$	180	48,48
4	$Zn(NO_3)_2$	80,00	10,77
5	$(NH_4)_2SO_4$	1700,00	480,00
	Mélanges binaires	**mg de sels/L**	**mg de sels/L**
6	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,30	0,043
7	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	7,32	2,20
8	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	4,50	0,26
9	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,225	0,047
10	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	193,00	13,85
11	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,383	0,036
12	50% $(NH_4)_2SO4$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	0,098	0,026

ESSAI *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ps) 72h - COMPILATION DES CONCENTRATIONS UTILISEES POUR LES CALCULS DE SPECIATION

No.	Solutions / Mélanges binaires testés	Concentrations initiales de la gamme de dilutions testée	
		Plus forte concentration de la gamme	Plus faible concentration de la gamme
		µg de sel/L	µg de sel/L
1	$Cd(NO_3)_2$	143	52
2	$Cu(NO_3)_2$	165	34
3	$Pb(NO_3)_2$	105	50
4	$Zn(NO_3)_2$	426	128
	Mélanges binaires	**µg de sels/L**	**µg de sels/L**
5	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	180	50
6	50% $Cd(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	271	50
7	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cd(NO_3)_2$	137	78
8	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	108	49
9	50% $Pb(NO_3)_2$ + 50% $Zn(NO_3)_2$	108	55
10	50% $Zn(NO_3)_2$ + 50% $Cu(NO_3)_2$	244	15

N.B. : Ces concentrations ne prennent pas en compte l'inoculum qui est rajouté dans les puits d'essai des microplaques.

Annexe F : CE_{20} des bioessais mis en œuvre sur l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Commune de Grézieu-La-Varenne, France)

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur la fraction « eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Grézieu-La-Varenne)

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-
		48h	NT	-	-
	Vibrio fischeri	30 mn	NT	-	-
Chronique	*Pseudokirchneriella subcapitata*	72h	NT	-	-
	Brachionus calyciflorus	48h	NT	-	-
	Daphnia magna	21j C	NT	-	-
		21j R	NT	-	-
	Ceriodaphnia dubia	7j C	16,64	9,12	24,38
		7j R	19,59	10,77	27,68

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur les « particules » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Grézieu-La-Varenne)

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Vibrio fischeri*	20 mn	0,20	0,18	0,22

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur une fraction préalablement congelée de l'« eau » de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge (Grézieu-La-Varenne)

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-
		48h	NT	-	-
	Vibrio fischeri	30 mn	NT	-	-
Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	NT	-	-

Légende :

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

Annexe G : Synthèse sur les essais écotoxicologiques préliminaires mis en œuvre en Haïti sur les échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne (Commune de Port-au-Prince, Haïti)

SYNTHESE SUR LES ESSAIS ECOTOXICOLOGIQUES PRELIMINAIRES MIS EN ŒUVRE EN HAÏTI SUR LES ECHANTILLONS DE RUTP DU CANAL-BOIS-DE-CHENE

Nous relatons ici ces essais préliminaires afin d'en tirer les principaux enseignements concernant les spécificités de l'écotoxicologie en milieu tropical ainsi que les enseignements pour la mise en place du laboratoire d'écotoxicologie tropicale à l'Université Quisqueya, à Port-au-Prince (Haïti).

La démarche de caractérisation écotoxicologique des échantillons prélevés en Haïti prévoyait la mise en œuvre de 4 des 5 essais constituant la batterie de bioessais mono-spécifiques définie, aussi bien sur les échantillons frais (i. e. en Haïti, à la suite de la campagne de prélèvements) que sur des fractions préalablement congelées de ces échantillons (i. e. au cours de ma mobilité en France). Les essais en question sont : 1) *V. fischeri* (Microtox®) sur la fraction « eau » des échantillons ; 2) *V. fischeri* sur les particules (Microtox® Basic Solid Phase Test) ; 3) *B. calyciflorus* sur la fraction « eau » ; et, 4) *H. incongruens* sur les particules des échantillons de RUTP.

Tel que spécifié dans le chapitre relatif aux résultats, certains de ces essais n'ont pas pu être mis en œuvre convenablement (Microtox® principalement, ainsi que l'essai *B. calyciflorus*) en raison de problèmes techniques, tandis que d'autres n'ont pas pu être validés sur la base des protocoles utilisés (*H. incongruens* principalement).

1. Principales observations faites pour les essais mis en œuvre sur les échantillons frais, en Haïti

Quelques observations ont pu être dégagées pour les essais mis en œuvre sur les échantillons frais de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, en Haïti, même si ces tentatives n'ont pas été tout à fait concluantes au regard de leurs protocoles de réalisation respectifs.

Essai *V. fischeri*

Le nombre d'ampoules de bactéries *V. fischeri* disponible pour réaliser la campagne d'essais était limité. Une série de coupures de courant qui se sont produites pendant la réalisation de la série d'essais sur la fraction « eau » ont épuisé la suspension de bactéries sans permettre de réaliser les essais. Toutefois, en ce qui concerne l'essai *V. fischeri* sur les particules, des essais préliminaires avaient été réalisés sur les particules des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne, avant cet incident technique. L'analyse des données brutes a permis de procéder à deux principales constatations :

- la validation des témoins : des baisses de luminescence importantes ont été enregistrées pour les lectures réalisées pour le témoin sur la durée de la période d'essai. A titre d'exemple, une luminescence de 87 mesurée en début est passée à 51 au bout de 15 mn. Cette observation pourrait être liée à des problèmes de température. Au moment de la réalisation de cet essai, les conditions de température (puits d'incubation et de mesure : 17 °C) étaient légèrement supérieures à celles recommandées dans le protocole (15 °C ± 1 °C). La température ambiante à l'intérieur du laboratoire UnET était de 26,4 °C à ce moment là ;

- échantillon JJD vs échantillon CSP : les lectures de luminescence réalisées à 15 min pour ces 2 échantillons indiquaient, pour la plus faible concentration (6,25%) de la gamme de dilutions testée, une luminescence de 8 pour l'échantillon CSP et une luminescence de 1 pour l'échantillon JJD. Ceci incite à penser que, à concentration égale, l'échantillon frais provenant du point JJD présenterait une toxicité plus importante que celle de l'échantillon frais provenant du point CSP. Cependant, les informations disponibles sur la base de ces seuls essais préliminaires ne permettent pas de confirmer cette prédiction pour les échantillons frais.

Les premières constatations faites sur la base de l'essai Microtox® soulignent donc l'existence d'un effet toxique des particules de ces deux échantillons frais mais ne permettent pas de quantifier ce niveau toxique, ni de différencier les échantillons.

Essai *B. calyciflorus* (rotifère)

Pour l'essai rotifère (Bc 48h), l'impossibilité de valider cet essai est liée à un problème de contamination de la souche de sporocystes utilisée pour la réalisation des essais. Le dénombrement des rotifères en fin d'essai s'est révélé très difficile en raison de la présence d'un nombre important de rotifères mâles dans les puits.

Aucune conclusion en terme de niveau toxique de la fraction « eau » des 2 échantillons frais testés ne peut être tirée sur la base de cet essai.

Essai *H. incongruens* (ostracode)

En ce qui concerne l'essai ostracode (Hi 6j), le fait le plus marquant qui a été observé concerne les puits « Témoin ». En effet, une forte mortalité a été observée dans le témoin comparativement au seuil fixé pour valider l'essai (moins de 20% de mortalité dans le témoin). La principale hypothèse émise à la suite de cette observation s'est portée sur les conditions de température dans lesquelles s'est déroulé l'essai (température ambiante de la salle d'essai : 29 °C, au lieu de 25 °C recommandée). Ce point a été investigué de manière plus approfondie par la mise en route de l'essai une seconde fois (1 mois après), sur des échantillons préalablement congelés. Les principaux résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 89, même si les conditions de validation de l'essai n'ont pas été réunies.

Tableau 89 : Valeurs obtenues pour les critères d'effet des essais osctracodes réalisés en Haïti

Echantillons	Critères d'effet			
	Mortalité (% par rapport à la population initiale)		Croissance des organismes (par rapport à la taille initiale)	
	29 °C	29,5 °C	29 °C	29,5 °C
Témoin	87%	48%	213 µm	+ 171 µm
	Ech. frais	Ech. congelé	Ech. frais	Ech. congelé
Paricules CSP	88%	7%	+ 664 µm	+ 998 µm
Particules JJD	42%	25%	+ 501 µm	+ 855 µm

Les données figurant dans ce tableau appellent certains commentaires :

- validation du témoin vs température de réalisation de l'essai : même si les écarts sont significatifs (surtout en ce qui concerne la mortalité) pour ces 2 essais, réalisés dans des conditions de température pratiquement similaires, si on se réfère uniquement à ce paramètre, on peut conclure à une influence de la température aussi bien sur la mortalité des organismes que sur leur croissance ;
- échantillon CSP vs échantillon JJD : en ce qui concerne les échantillons de RUTP testés, on constate :
  - un « effet point de prélèvement » : surtout en ce qui concerne la mortalité. En effet, selon le point de prélèvement, les pourcentage de mortalité sont différents d'au moins un facteur de 2. Cependant, selon le mode de conservation de l'échantillon, le pourcentage de mortalité a diminué mais les écarts restent toujours aussi important entre les 2 échantillons. Ce même « effet point de prélèvement » est également observé pour la croissance des organismes mais dans des proportions moins importantes ;
  - un « effet mode de conservation » : la congélation a conduit a des échantillons moins toxiques pour les organismes aussi bien en termes de mortalité que de croissance des organismes. Ce phénomène a déjà été observé et relaté dans la littérature [Jean, 1991] ; [Plagellat, 2004] ; [Boillot, 2008]. La congélation semble affecter la biodisponibilité des éléments toxiques présents dans ces échantillons. Globalement, les résultats sur échantillons frais font ressortir une toxicité plus importante de CSP par rapport à JJD en terme de mortalité (mortalité CSP > mortalité JJD) et, en terme de croissance des organismes, c'est l'échantillon JJD qui se révèle le plus toxique (croissance organismes CSP > croissance organismes JJD). Pour les échantillons préalablement congelés, c'est l'échantillon JJD qui se révèle le plus toxique aussi bien en terme de mortalité (mortalité JJD > mortalité CSP) que de la croissance des organismes (croissance organismes CSP> croissance organismes JJD).

- <u>témoin vs échantillons</u> : la température plus élevée que la normale conduit à une augmentation du métabolisme des organismes qui ont pu se trouver limités par la faible quantité de nourriture fournie en début d'essais dans le témoin ; ce qui a limité leur croissance. La matière organique supplémentaire apportée par les échantillons a permis une croissance plus importante des ostracodes que celle observée dans le témoin.

Nous soulignons que ces premières tentatives de conclusions en terme de degré de toxicité des ces 2 échantillons, l'un par rapport à l'autre, ne sont que partielles car l'essai n'a pas été validé. Néanmoins, on arrive quand même à dégager certaines grandes tendances en terme d'influence de la température et du mode de conservation des échantillons par rapport à la mise en œuvre de ces essais.

2. Essais mis en œuvre en Haïti vs essais mis en œuvre en France

<u>Influence de la température sur la validation des essais</u>

Cette comparaison porte essentiellement sur les éléments d'informations provenant des essais mis en œuvre, à la fois, en Haïti et en France.

Dans un premier temps, on a souhaité approfondir la question de l'influence de la température sur les résultats obtenus, en ce qui concerne l'essai ostracode. Pour ce faire, des essais ont été mis en œuvre en France, en simulant la température ambiante au moment de la réalisation des essais en Haïti (autour de 30 °C). Ces essais portent principalement sur le témoin de l'essai ostracode. Le même protocole de réalisation de l'essai a été utilisé à l'exception de la température qui a été portée à 29 °C ± 0,5 °C, aussi bien pour l'éclosion des sporocystes que pour la réalisation de l'essai. La Figure 67 présente le dispositif mis en place pour la réalisation de l'essai : bac de sable chauffé par bain-marie. La température a été suivie et maintenue stable tout au long de la durée de l'essai.

Figure 67 : **Dispositif mis en place pour la réalisation de l'essai ostracode à 29 °C en France (Photo : Angerville, 2007)**

Le Tableau 90 synthétise les résultats obtenus pour l'essai réalisé à 29 °C ± 0,5 °C et présente également des valeurs moyennes observées (dans le cadre de cette thèse) pour les mêmes critères d'effet suivis pour l'essai ostracode réalisé à 25 °C.

Tableau 90 : Variation moyenne des valeurs des critères d'effet de l'essai osctracode en fonction de la température

Echantillons	Critères d'effet			
	Mortalité (% par rapport à la population initiale)		Croissance des organismes (par rapport à la taille initiale)	
	25 °C	29,5 °C ± 0,5 °C	25 °C	29,5 °C ± 0,5 °C
Témoin	7%	57%	+ 421 µm	+ 363 µm

Ces résultats mettent clairement en évidence un effet de la température vis-à-vis des 2 critères d'effet de l'essai ostracode avec un écart nettement plus important en ce qui concerne la mortalité des organismes. Les valeurs obtenues pour les 2 critères d'effet à 29 °C ± 0,5 °C sont relativement en accord avec celles obtenues pour les essais réalisés en Haïti (voir Tableau 89). La température ressort donc comme un facteur important à maîtriser pour la validation de cet essai. Néanmoins, il est nécessaire d'approfondir cet aspect au moyen de la mise en œuvre d'autres essais qui permettront d'apprécier la répétabilité de ces premières observations.

Echantillon frais vs échantillon congelé

Sur la base des essais mis en œuvre en Haïti et en France, il est possible de dégager certaines grandes tendances sous réserve de la validation des principales observations faites pour les essais réalisés en Haïti.

L'essai ostracode est le seul essai de la batterie de bioessais mise en œuvre qui permette de faire cette comparaison. En effet, si on rajoute les données obtenues pour la campagne d'essais réalisée à 25 °C à celles figurant dans le Tableau 89, on aboutit au tableau ci-dessous (Tableau 91).

Tableau 91 : Variation des valeurs des critères d'effet de l'essai osctracode en fonction de la température et du mode de conservation des échantillons de RUTP prélevés en Haïti

Echantillons	Critères d'effet					
	Mortalité (% par rapport à la population initiale)			Croissance des organismes (par rapport à la taille initiale)		
	Ech. frais	Ech. congelé		Ech. frais	Ech. congelé	
	29 °C	29,5 °C	25 °C	29 °C	29,5 °C	25 °C
Particules CSP	88%	7%	8%	+ 664 µm	+ 998 µm	+ 491 µm
Particules JJD	42%	25%	62%	+ 501 µm	+ 855 µm	+ 121 µm

Un problème technique n'a pas permis de réaliser l'essai ostracode à 29 °C ± 0,5 °C en France, sur les particules des échantillons de RUTP (CSP et JJD) prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne (en Haïti). En effet, les volumes de particules provenant des échantillons de RUTP prélevés en Haïti et ramenés en France n'étaient pas suffisants pour mettre en œuvre d'autres essais ostracode en France, qui auraient permis de poursuivre cette étude comparative pour les échantillons du Canal Bois-de-Chêne.

Les données obtenues révèlent une nette influence de la congélation sur l'effet toxique des particules de l'échantillon CSP par rapport à l'organisme test. Ainsi, si on ne tient pas compte de « l'effet température de réalisation de l'essai », on observe une nette diminution de la toxicité des particules de CSP lorsqu'ils sont congelés par rapport la mortalité observée pour l'échantillon frais. Par contre, en ce qui concerne les particules de l'échantillon JJD, cette tendance n'est pas clairement observée lorsqu'on fait abstraction de la température.

Pour la croissance des organisme, on met en évidence une diminution des effets toxiques des 2 échantillons lorsqu'ils ont été préalablement congelés. Cette observation concerne uniquement les essais mis en œuvre à des températures pratiquement équivalentes et plus importantes que la température recommandée dans le protocole de réalisation de l'essai.

Ces énoncés ne sont que conclusions provisoires qui doivent être confirmés par des résultats validés dans les conditions de réalisation des essais à l'UnET en Haïti.

3. Synthèse et principales conclusions

Parmi les principales conclusions qui peuvent être tirées de cette comparaison (essais réalisés en Haïti et essais réalisés en France) pour les échantillons prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne, à Port-au-Prince (en Haïti), figurent le fait que la congélation et la température influencent grandement la toxicité des échantillons prélevés en Haïti. De ce fait, les indices de risque calculés au moyen de l'application de la méthodologie d'EDREcotox, selon une approche *a priori*, pourraient être plus importants encore que ceux obtenus dans le cadre de cette étude.

Ces premiers résultats sont, par ailleurs, très instructifs, notamment, pour le LAQUE dans le cadre de son processus de mise en place d'un laboratoire d'écotoxicologie tropicale (UnET) en Haïti.

Annexe H : CE_{20} des bioessais mis en œuvre en France sur des fractions congelées des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne (Commune de Port-au-Prince, Haïti)

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur une fraction préalablement congelée de l'« eau » des RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne (Port-au-Prince)

- **au niveau du point CSP**

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-
		48h	NT	-	-
	Vibrio fischeri	30 mn	NT	-	-
Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	38,59	5,91	54,45

- **au niveau du point JJD**

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-
		48h	NT	-	-
	Vibrio fischeri	30 mn	19,21	16,90	22,00
Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	34,60	29,06	40,43

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur les « particules » préalablement congelées des RUTP prélevés dans le Canal Bois-de-Chêne (Port-au-Prince)

- **au niveau du point JJD**

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Vibrio fischeri*	20 mn	0,33	0,28	0,38

- **au niveau du point JJD**

Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		CE_{20} (en % volumique de RUTP)	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Aiguë	*Vibrio fischeri*	20 mn	0,31	0,26	0,36

Légende :

IC95 : Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

Annexe I : Principales bases de données internationales sur la toxicité des substances

Contenu dominant	Nom de la base de données	Informations complémentaires	Adresses internet
E	AGRITOX	Pesticides	www.inra.fr/agritox
T	ATSDR toxicological profiles		www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html
P	CERIJ	Centre d'évaluation des risques japonais	www.cerij.or.jp
P	Chemindex		ccinfoweb.ccohs.ca/chemindex/search.html
P, T, E	Chemfact		www.epa.gov/chemfact
P	Chemfinder		www.chemfinder.com/
PBD	CHEMWEB		www.chemweb.com/
P, T, E	ECB	Évaluations des risques sur les substances existantes / Classification environnementale	ecb.jrc.it/
PBD	Environmental Fate Database		
P	DATALOG	Devenir dans l'environnement	
P, E	BIOLOG	Toxicité microbienne et biodégradation	http://esc.syrres.com/efdb.htm
P	CHEMFATE	Devenir dans l'environnement	
P	BIODEG	Biodégradation	
PBD	ECOTOX	Ecotoxicology database (US EPA)	www.epa.gov/ecotox
	AQUIRE	Effets sur les organismes aquatiques	
	PHYTOTOX	Effets sur les plantes terrestres	
	TERRETOX	Effets sur les animaux	
P, T, E	EXTOXNET	Pesticides	http://ace.orst.edu/info/extoxnet/
T	IARC monographs	Cancérogénicité	http://monographs.iarc.fr/
T	INRS		www.inrs.fr/
P, T, E	IPCS INCHEM	Programme de l'OMS	www.inchem.org/
P, T, E	IUCLID		http://ecb.jrc.it/
T	MEDLINE		www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi
P, E	NSDB	Nordic Substance DataBase	www.norden.org/miljoe/sk/nsdp.asp
P, T, E	NICNAS	Evaluation et notification des substances chimiques industrielles (Australie)	www.nicnas.gov.au
T	NIOSH	Valeurs limites d'exposition au travail	www.cdc.gov/niosh/npg/pgdstart.htm
P, T, E	OCDE	Integrated HPV Database (recueil des SIDS)	http://cs3-hq.oecd.org/scripts/hpv/
P, T, E	OSPAR	Substances potentiellement préoccupantes	www.ospar.org/fr/html/welcome.html
P, T, E	Portail Substances Chimiques	PBD toxicologiques et environnementales sur les substances chimiques	http://chimie.ineris.fr
P	PPD	Phytosanitaires (site américain)	www.arsusda.gov/ppdb.html
PBD	TOXNET		
P, T, E	HSDB	Hazardous Substances DataBank	
T	IRIS	Integrated Risk Information System	
T	CCRIS	Chemical Carcinogenesis Research Information System	www.toxnet.nlm.nih.gov/
T	GENE-TOX	Mutagénicité	
T	TOXLINE		
P, T, E	TSCATS	Toxic Substance Control Act Test Submission	http://esc.syrres.com/efdb/TSCATS.htm

Tableau tiré de ADEME [2005a], avec :

E : Écotoxicologie

T : Toxicologie

P : Identification des substances, propriétés physico-chimiques

PBD : Portail vers Bases de Données

Annexe J : Concentrations en métaux dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne (Grézieu-La-Varenne, France)

Tableau 92 : Concentration en métaux dissous dosés dans les échantillons des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Paramètres	Unités	Eau de surface			Eau surnageante de la zone benthique			Eau surnageante de la zone hyporhéique		
		S2-ES " Eau "	S3-ES " Eau "	S4-ES " Eau "	S2-B " Eau "	S3-B " Eau "	S4-B " Eau "	S2-H " Eau "	S3-H " Eau "	S4-H " Eau "
Métaux :										
Cd	µg/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cr	µg/L	3,5	2,2	1,2	3	2,7	1,5	3,4	2,0	1,7
Cu	µg/L	3,5	3,3	4,4	13,3	10,9	6,2	18,4	9,9	7,8
Ni	µg/L	2,1	2,2	1,4	2,3	1,6	1,8	1,7	2,9	2,7
Pb	µg/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Zn	µg/L	ND	ND	ND	ND	150	160	240	ND	ND

ND : Non Détecté

Tableau 93 : Concentration en métaux dans les particules fines et les sédiments grossiers des échantillons benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Paramètres	Unités	Eau de surface			Zone benthique						Zone hyporhéique					
		Particules (P)			Particules fines (PF)			Sédiment grossier (SG)			Particules fines (PF)			Sédiment grossier (SG)		
		S2-ES " P "	S3-ES " P "	S4-ES " P "	S2-B " PF "	S3-B " PF "	S4-B " PF "	S2-B " SG "	S3-B " SG "	S4-B " SG "	S2-H " PF "	S3-H " PF "	S4-H " PF "	S2-H " SG "	S3-H " SG "	S4-H " SG "
Métaux :																
Cd	mg/kg MS	ND	0,03	0,03	0,06	0,18	0,23	0,03	0,05	0,03	ND	0,45	ND	0,03	0,06	0,04
Cr	mg/kg MS	3,75	8,58	6,70	23,91	65,62	76,44	29,21	32,88	23,62	5,51	7,82	2,69	9,10	31,86	3,54
Cu	mg/kg MS	3,63	6,79	5,73	12,79	37,15	61,66	9,22	7,78	5,10	7,13	3,92	3,08	5,95	25,09	14,41
Ni	mg/kg MS	3,28	8,85	8,80	26,89	69,13	65,64	25,90	25,14	27,47	5,10	8,62	2,23	14,99	36,37	5,53
Pb	mg/kg MS	1,14	8,22	6,64	19,57	73,00	180,92	7,59	6,86	7,61	4,73	7,38	6,87	8,22	43,14	36,27
Zn	mg/kg MS	80,60	94,80	78,30	85,20	180,20	283,40	44,80	75,40	72,70	129,40	55,90	35,10	99,00	159,50	50,20

ND : Non Détecté

Tableau 94 : Concentration en métaux dosés dans l'échantillon hyporhéique S4-H3

Paramètres	Unités	Echantillon S4-H3			
		Eau surnageante	Unités	Particules fines (PF)	Sédiment grossier (SG)
		S4-H3 " Eau "		S4-H3 " PF "	S4-H3 " SG "
Métaux :					
Cd	µg/L	ND	mg/kg MS	ND	0,05
Cr	µg/L	1,7	mg/kg MS	23,99	4,26
Cu	µg/L	10	mg/kg MS	71,51	19,94
Ni	µg/L	0,7	mg/kg MS	21,70	5,35
Pb	µg/L	ND	mg/kg MS	180,15	50,13
Zn	µg/L	130	mg/kg MS	188,40	55,5

ND : Non Détecté

Annexe K : CE_{20} des bioessais mis en œuvre sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Résultats de la batterie de bioessais mise en œuvre sur les échantillons d'Eau de Surface (ES) et la fraction « Eau et particules fines (EPF) » des échantillons des zones benthique et hyporhéique des 3 stations d'étude au niveau de la rivière Chaudanne

Horizon d'étude	Type de toxicité	Organisme test et durée d'exposition		S2-ES			S3-ES			S4-ES		
				CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Eau de Surface	Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
			48h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
		Vibrio fischeri	30 mn	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
	Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
				S2-B EPF			S3-B EPF			S4-B EPF		
				CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Zone benthique	Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
			48h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
	Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	NT	-	-	NT	-	-	8,22%	3,27%	15,42%
				S2-H EPF			S3-H EPF			S4-H EPF			S4-H3 EPF		
				CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.	CE_{20}	IC95 Inf.	IC95 Sup.
Zone hyporhéique	Aiguë	*Daphnia magna*	24h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
			48h	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-	NT	-	-
		Vibrio fischeri	30 mn	NT	-	-	NT	-	-	24,59%	17,86%	30,79%	10,18%	8,83%	11,15%
	Chronique	*Brachionus calyciflorus*	48h	NT	-	-	11,06%	5,82%	19,17%	73,35%	41,52%	95,56%	11,62%	8,46%	22,14%

N.B. : Les valeurs de CE_{20} ainsi que les IC sont exprimées en % volumique d'échantillon

Légende : IC = Intervalle de confiance à 95% (Inf. = valeur inférieure ; Sup. = valeur supérieure)

Annexe L : Caractérisation du rejet provenant de la zone commerciale et qui se déverse dans la rivière Chaudanne (Grézieu-La-Varenne, France)

CARACTERISATION DU REJET PROVENANT DE LA ZONE COMMERCIALE

1. DEMARCHE ADOPTEE

a. Campagne de prélèvement

Sur la base des résultats obtenus suite à la caractérisation des échantillons de la station S4 au niveau de la rivière Chaudanne, il a paru nécessaire de procéder à la caractérisation d'un rejet particulier provenant d'une zone commerciale et se déversant dans la rivière en amont immédiat de cette station. Ce rejet est caractérisé par un débit nettement plus faible que celui du Déversoir d'Orage (DO) du Pont de la Barge qui se situe nettement en amont du point de déversement de ce rejet.

L'analyse des échantillons prélevés au niveau de ce point de déversement permettra d'apprécier les caractéristiques physico-chimiques et écotoxicologique de ce rejet particulier et son éventuelle contribution au problème d'impact constaté au niveau de la station S4.

Selon Vivier [2006], ce rejet présente un caractère épisodique correlé essentiellement à la pluviométrie.

Une campagne de prélèvements a été réalisée le 03 avril 2008. En analysant les données du CEMAGREF de Lyon [Breil, 2008], on constate qu'il a plu sur le bassin-versant de la Chaudanne dans la nuit du 02 au 03 avril 2008 (voir **Figure 27** à la page 194).

b. Point de prélèvement

La **Figure 68** illustre la situation à l'exutoire du réseau de drainage constitué de deux conduites déversant leurs rejets dans la rivière. Les échantillons prélevés ont été récupérés au niveau de cet exutoire. On observe également la présence d'un « palier brise-charge » qui permet d'éviter des affouillements sévères au droit du point de déversement.

Figure 68 : **Rejet issu de la zone commerciale se déversant dans la rivière Chaudanne, en amont immédiat de S4**

c. Prélèvement et conditionnement des échantillons ramenés au laboratoire

Trois échantillons ont été récupérés au point de déversement du rejet issu de cette zone commerciale : (i) au niveau du tuyau de plus petit diamètre (Echantillon A) ; (ii) au niveau du tuyau de plus grand diamètre (Echantillon B) ; et (iii) sur le palier brise-charge du système de drainage (Echantillon C). Les échantillons A et B sont des échantillons d'eau et l'échantillon C est un mélange d'eau et de particules découlant probablement de la décantation des rejets liquides des deux tuyaux.

Les échantillons d'eau (A et B) ont été récupérés par prélèvements successifs au moyen d'un bécher placé à l'extrémité des tuyaux ; le contenu de chaque bécher est ensuite versé dans un flacon en polyéthylène. L'échantillon C a été récupéré au moyen d'une petite pelle à sédiment puis versé dans un flacon en polyéthylène. Les flacons contenant ces trois échantillons (A, B et C) ont été conditionnés à 4° C puis transportés au laboratoire.

d. Préparation des échantillons

De manière générale, les protocoles de préparation des échantillons ont été les mêmes que ceux adoptés pour la préparation des échantillons prélevés dans la rivière Chaudanne, sur la base des analyses de caractérisation prévues (physico-chimique et écotoxicologique) et des paramètres à doser.

e. Caractérisation physico-chimique du rejet de la zone commerciale

Les paramètres retenus pour la caractérisation physico-chimique des échantillons du rejet de la zone commerciale ont été dosés soit au LSE de l'ENTPE, soit à POLDEN. Globalement, la même sélection d'analyses physico-chimiques qui a été utilisée pour caractériser les échantillons de la rivière Chaudanne a été reconduite pour caractériser ce rejet. Les paramètres retenus sont présentés dans le Tableau 95. Les protocoles associés qui ont été utilisés sont les mêmes que ceux présentés pour la caractérisation de l'échantillon de RUTP du DO du Pont de la Barge ou des échantillons de RUTP du Canal Bois-de-Chêne.

Tableau 95 : Caractérisation physico-chimique des échantillons du rejet provenant de la zone commerciale : Paramètres dosés, préparation de l'échantillon, normes et limites de quantification (LQ)

	Paramètres	Echantillon (brut / filtré)	Norme	LQ
Paramètres globaux	pH*	Brut	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	T (°C)*	Brut	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Conductivité*	Brut	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	Potentiel redox*	Brut	Analyseur multi-paramètres Consort C831	-
	O_2 dissous*	Brut	inoLab Oxi Level 2	-
	MES*	Brut	NF EN 872	2 mg/L
	DCO*	Brut	Test en tube C4/25 (WTW)	25-1500 mg/L
Métaux	Cd**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	0,1 µg/L
	Cr**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Cu**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Ni**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Pb**	Brut et filtré	NF T 90-119 (SAA- four graphite)	1 µg/L
	Zn**	Brut et filtré	NF T 90-112 (SAA-flamme) : brut	100 µg/L

* Analyses réalisées à POLDEN ; ** Analyses réalisées au LSE

Le dosage des métaux pour l'échantillon brut a été réalisé après minéralisation de ce dernier

f. Caractérisation écotoxicologique du rejet provenant de la zone commerciale

La mise en évidence des effets écotoxicologiques des échantillons a été réalisée au moyen d'une batterie de bioessais mono-spécifiques. Cette batterie de bioessais est la même que celle mise en œuvre pour caractériser les échantillons de la rivière Chaudanne (campagne de prélèvements de février 2008). Le Tableau 96 présente une synthèse des bioessais retenus, de leur protocole et de la préparation des échantillons.

Des adaptations ont été faites en ce qui concerne la préparation des échantillons. Dans l'ensemble, les essais ont été réalisés sur l'échantillon brut non décanté. Ce choix repose sur la volonté de mettre en évidence les effets des échantillons bruts dans la mesure où (i) le protocole de réalisation des essais le permettait, et où (ii) les concentrations en MES de l'échantillon ne constituaient pas vraiment une source de pertubation pour la bonne conduite des essais.

Tableau 96 : Synthèse des bioessais mis en œuvre pour la caractérisation écotoxicologique du rejet provenant de la zone commerciale (campagne de prélèvements d'avril 2008)

Type d'exposition	Organisme test	Norme/Protocole	Critère d'effet mesuré (durée d'exposition)	Préparation de l'échantillon	Remarques
Aiguë	*Daphnia magna* (Dm)	NF EN ISO 6341 (T 90-301)	Mobilité (24 h et 48 h)	Echantillon brut	Ech. A., Ech. B, *
	Vibrio fischeri (Vf)	ISO 11348-3	Luminescence (30 mn)	Echantillon brut	Ech. A., Ech. B, Ech. C
Chronique	*Brachionus calyciflorus* (Bc)	Protocole RoToxkit™ F	Croissance de la population (48 h)	Echantillon brut	Ech. A., Ech. B, Ech. C
	Heterocypris incongruens (Hi)	Protocole OstracodToxkit™ F	Mortalité Croissance des organismes (6 j)	Echantillon brut	Ech. A., Ech. B, Ech. C

* Le volume disponible pour l'échantillon C n'a pas permis de mettre en œuvre l'essai *Daphnia magna* pour cet échantillon.

2. CARACTERISTIQUES DU REJET PROVENANT DE LA ZONE COMMERCIALE

Les paragraphes suivants présentent les résultats obtenus suite à la caractérisation physico-chimique et écotoxicologique du rejet provenant de la zone commerciale, qui se déverse dans la rivière Chaudanne.

a. Caractéristiques physico-chimiques

- **Présentation des résultats des analyses physico-chimiques**

Le Tableau 97 présente les résultats obtenus pour les paramètres globaux et les métaux dosés pour les trois échantillons constituant le rejet provenant de la zone commerciale.

Tableau 97 : Résultats des paramètres dosés pour les échantillons du rejet provenant de la zone commerciale

Paramètres	Unités	Echantillon A			Echantillon B			Echantillon C		
		brut	Filtré à 0,45 µm	Particules	brut	Filtré à 0,45 µm	Particules	brut	Filtré à 0,45 µm	Particules
Paramètres globaux :										
pH	-	7,47	-	-	8,25	-	-	7,23	-	-
T	° C	16,5	-	-	13	-	-	16,8	-	-
Conductivité	µS/cm	270	-	-	767	-	-	448	-	-
Potentiel redox	mV	541	-	-	520	-	-	486	-	-
O_2 dissous	mg/L	7,7	-	-	7,6	-	-	2,4	-	-
MES	mg/L	9,8	-	-	35,1	-	-	6700	-	-
DCO	mg/L	27	-	-	38	-	-	> 1500	-	-
Métaux :										
Cd	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0067	ND	-
Cr	mg/L	0,0016	0,0012	0,0004	0,0031	0,0026	0,0005	0,417	0,001	0,416
Cu	mg/L	0,0045	0,0042	0,0003	0,0034	0,0032	0,0002	1,220	0,0022	1,218
Ni	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,302	0,005	0,297
Pb	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,415	0,027	0,387
Zn	mg/L	0,390	0,360	0,03	ND	ND	ND	51,18	0,66	50,52

ND : Non Détecté ; « - » : Non déterminé.

- **Analyse des résultats physico-chimiques**

  - ✓ **Paramètres globaux**

Le pH

L'échantillon C présente le pH le plus faible (7,23) tandis que l'échantillon B présente le pH le plus élevé (8,25). Le pH de l'échantillon A (7,47) est intermédiaire à ces 2 valeurs.

Le pH de l'échantillon C est plus proche de celui de l'échantillon A. Cela est peut-être du au fait que le tuyau qui rejette l'échantillon A est celui dont le volume déversé était le plus important au

moment du prélèvement. Le gros tuyau (échantillon B) ne déversait qu'un filet d'eau à ce moment là. L'activité microbienne de dégradation de la matière organique contenue dans l'échantillon C peut également être un autre facteur à la base de cette valeur de pH.

La température

Au moment de la mesure du pH et de la conductivité, les échantillons présentaient des températures comprises entre 13 °C et 16,8 °C. Tout comme cela a été observé pour le pH, la température de l'échantillon C (16,8 °C) est plus proche de celle de l'échantillon A (16,5 °C) que de celle de l'échantillon B (13 °C).

La conductivité

La conductivité mesurée pour les 3 échantillons prélevés est comprise entre 270 µS/cm pour l'échantillon A et 767 µS/cm pour l'écantillon B, celle de l'échantillon C est de 448 µS/cm. L'échantillon C présente une valeur de conductivité intermédiaire entre celle des échantillons A et B. Ces valeurs de conductivité indiquent que ces 3 échantillons contiennent des concentrations en sels dissous très différentes.

Le potentiel redox

La mesure du potentiel redox indique des valeurs à peu près équivalentes pour les échantillons A (541 mV) et B (520 mv). Le potentiel redox de l'échantillon C (486 mV) est le plus faible des trois valeurs mesurées. Les trois échantillons ne sont pas de nature septique puisque leur potentiel redox est supérieur à 150 mV [Rejsek, 2002a]. Les valeurs mesurées sont nettement supérieures à celles mesurées pour les effluents domestiques (100 mV : [DEGREMONT, 1989]).

L'oxygène dissous

Les concentrations en oxygène dissous sont pratiquement équivalentes pour les échantillons A (7,7 mg/L) et B (7,6 mg/L) tandis que celle de l'échantillon C (2,4 mg/L) est la plus faible valeur mesurée. Le palier brise-charge sur lequel l'échantillon C a été prélevé constitue une zone stagnante avec de la matière organique en décomposition ; ce qui peut expliquer le fait que la concentration en oxygène dissous de l'échantillon C soit faible.

Les MES

Les concentrations en MES des échantillons A (9,5 mg/L) et B (35,1 mg/L) sont plutôt voisins comparativement à celle de l'échantillon C (6700 mg/L). L'apparence même de l'échantillon C confirme cette concentration élevée en MES dont l'origine provient vraissemblablement de la décantation des particules des échantillons A et B sur une échelle de temps indéterminée.

✓ **Matières oxydables**

Valeurs de DCO

Les valeurs de DCO mesurées pour les 3 échantillons sont du même ordre de grandeur pour les échantillons A (27 mg/L) et B (38 mg/L) et proches de la limite de quantification (LQ) inférieure (25 mg/L) de la méthode utilisée. Pour l'échantillon C, la DCO est supérieure à la limite supérieure (1500 mg/L) de la LQ de la méthode utilisée. Ces valeurs indiquent que les échantillons A et B contiennent une faible concentration de substances organiques oxydables, ce qui n'est pas le cas pour l'échantillon C.

✓ **Matières minérales**

Echantillon brut et échantillon filtré

Sur la base des concentrations des 6 éléments métalliques dosés dans les échantillons prélevés, il est possible de procéder aux classements suivants (par ordre décroissant) :

- échantillon brut (mg/L) :
  - Ech. A : Zn(0,390) > Cu(0,0045) > Cr(0,0016) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) ;
  - Ech. B : Cu(0,0034) > Cr(0,0031) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) et Zn(ND) ;
  - Ech. C : Zn(51,18) > Cu(1,22) > Cr(0,417) > Pb(0,415) > Ni(0,302) > Cd(0,0067) ;
- filtrat à 0,45 µm (mg/L) :
  - Ech. A : Zn(0,360) > Cu(0,0042) > Cr(0,0012) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) ;
  - Ech. B : Cu(0,0032) > Cr(0,0026) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) et Zn(ND) ;
  - Ech. C : Zn(0,66) > Pb(0,027) > Ni(0,005) > Cu(0,0022) > Cr(0,001) > Cd(ND) ;

En comparant ces valeurs, on constate pour les échantillons A et B, que la majeure partie de la pollution métallique est dissoute, ce qui est assurément lié au fait que les concentrations en MES dosées pour ces 2 échantillons sont très faibles. En ce qui concerne l'échantillon C, la majeure partie de la pollution est liée à la phase particulaire de cet échantillon. Le Zn ressort comme le métal le plus présent dans les échantillons A et C mais il n'a pas été détecté dans l'échantillon B.

Pollution particulaire (Tableau 49)

- Pollution métallique

A partir des données précédentes, les concentrations des 6 éléments métalliques dans les particules des 3 échantillons ont été calculées. Elles sont exprimées en mg/L et correspondent à la différence entre les concentrations dosées dans les échantillons bruts et celles dosées pour les filtrats à 0,45 µm. Les résultats obtenus permettent de procéder au classement suivant (par ordre décroissant) :

- Ech. A : Zn(0,03) > Cr(0,0004) > Cu(0,0003) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) ;
- Ech. B : Cr(0,0005) > Cu(0,0002) > Cd(ND) et Ni(ND) et Pb(ND) et Zn(ND) ;
- Ech. C : Zn(50,52) > Cu(1,218) > Cr(0,416) > Pb(0,387) > Ni(0,297) > Cd.

Tout d'abord, le Zn ressort à nouveau comme élément prédominant pour les échantillons A et C, alors que c'est le Cr qui est dosé à la plus forte concentration pour les particules de l'échantillon B. On constate également que certains éléments non détectés dans les échantillons A et B sont dosés à des concentrations importantes dans l'échantillon C. Ce qui renforce l'idée d'une contribution en apport de ces polluants par les 2 tuyaux depuis une durée indéterminée.

- **Synthèse sur les caractéristiques physico-chimiques du rejet provenant de la zone commerciale**

L'analyses des résultats physico-chimiques indique la présence de contaminants minéraux dans les 3 échantillons prélevés. L'échantillon C est le plus contaminé de ces 3 échantillons.

b. Caractéristiques écotoxicologiques

- **Essais *D. magna*, *V. fischeri*, *B. calyciflorus***

La **Figure 69** présente les valeurs de CE_{20} obtenues suite à la mise en œuvre des essais écotoxicologiques sur les 3 échantillons prélevés.

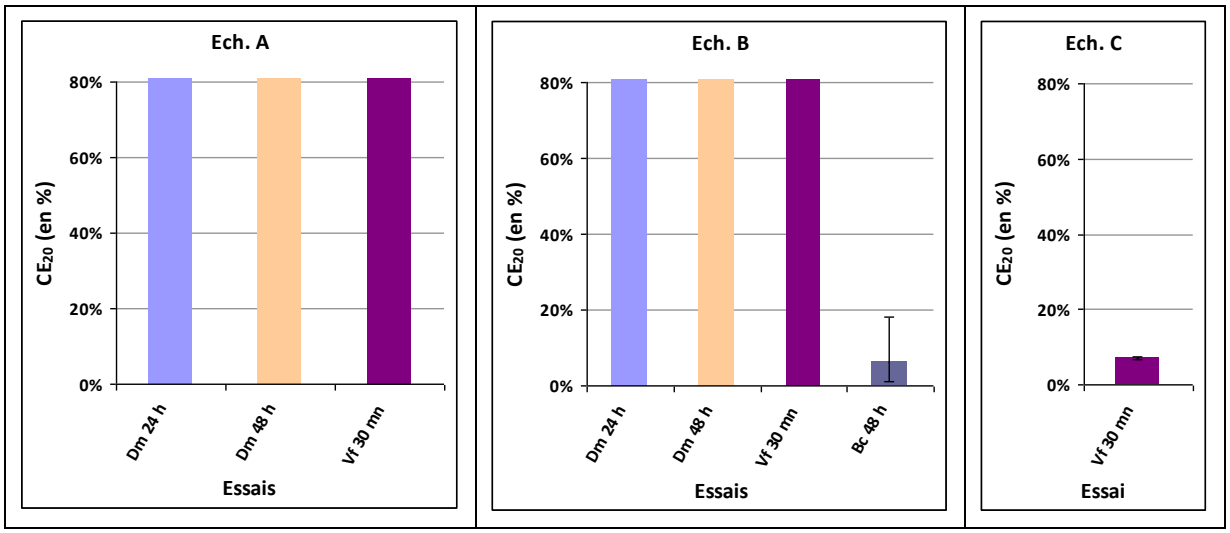


Figure 69 : **Caractéristiques écotoxicologiques des échantillons du rejet provenant de la zone commerciale et se déversant dans la rivière Chaudanne**

Essai *D. magna*

L'essai *D. magna* (24 h et 48 h) n'a pas été mis en œuvre pour l'échantillon C parce que le volume disponible ne le permettait pas. En ce qui concerne les échantillons A et B, les résultats indiquent que ces 2 échantillons ne sont pas toxiques (CE_{20} supérieure à 80% d'échantillon) vis-à-vis de l'organisme test.

Essai *V. fischeri*

L'essai *V. fischeri* (30 mn) mis en œuvre pour les 3 échantillons indique que les échantillons A et B ne sont pas toxiques (CE_{20} supérieure à 80% d'échantillon) vis-à-vis de l'organisme test. Par contre, en ce qui concerne l'échantillon C, les résultats de cet essai indique qu'il est toxique pour l'organisme *V. fischeri*. Si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002], l'échantillon B peut être qualifié de très toxique (CE_{20} = 7,10%) vis-à-vis de *V. fischeri*.

Essai *B. calyciflorus*

L'essai *B. calyciflorus* (48 h) a été mis en œuvre pour les 3 échantillons mais cet essai n'as pas été validé pour les échantillons A et C (reproduction insuffisante dans le témoin). Les résultats de cet essai indiquent que l'échantillon B est toxique pour l'organisme test. Si l'on se réfère à la proposition de classification de la qualité écotoxicologique des effluents de STEP établie par Santiago *et al.* [2002], l'échantillon B peut être qualifié de très toxique (CE_{20} = 6,24%) vis-à-vis de *B. calyciflorus*.

- **Essai *H. incongruens***

Le Tableau 98 présente les résultats obtenus pour l'essai ostracode mis en œuvre pour les 3 échantillons prélevés. Ce tableau présente les valeurs minimale et maximale observées pour chacun des critères d'effet, sur la base de la gamme de dilutions testée.

Indépendamment du critère d'effet considéré, on constate que les échantillons A et C constituent les échantillons qui présentent les effets toxiques les plus prononcés vi-à-vis de *H. incongruens*. En termes de mortalité c'est l'échantillon C qui se révèle le plus toxique tandis qu'en termes de croissance des organismes, c'est l'échantillon A qui est le plus toxique.

Tableau 98 : Ecotoxicité des échantillons de la zone commerciale vis-à-vis des ostracodes

Echantillons	Critères d'effet			
	Mortalité (% par rapport à la population initiale)		Croissance des organismes (% par rapport au témoin)	
	Valeur min	Valeur max	Valeur min	Valeur max
Echantillon A	0	13,3	-14	-45
Echantillon B	0	6,7	+16	-6
Echantillon C	3,3	30	+8	-31

3. SYNTHESE DES CARACTERISTIQUES DU REJET PROVENANT DE LA ZONE COMMERCIALE

Les analyses physico-chimiques ainsi que la batterie de bioessais testée pour la mise en évidence du caractère toxique des échantillons prélevés, provenant de la zone commerciale, permettent de conclure à un caractère toxique de ces échantillons vis-à-vis des organismes tests utilisés. Les concentrations en métaux constatées dans ces échantillons permettent d'expliquer au moins une partie de cette toxicité. Ce rejet de faible débit pourrait donc, sous certaines conditions (hyraulique, physico-chimique, etc.) contribuer à accentuer les effets toxiques observés au niveau de la station S4 et attribués majoritairement au DO du Pont de la Barge.

En vue de favoriser une amélioration de la qualité du milieu au niveau de la station S4, il est nécessaire d'intervenir pour arrêter ce déversement dans la rivière d'autant plus qu'il a été vérifié (août 2008) que le rejet provenant de cette zone commerciale peut être actif hors épisode pluvieux, surtout en ce qui concerne le petit tuyau où l'échantillon A a été prélevé. Ce qui représente un risque majeur pour les organismes du cours d'eau s'ils sont exposés uniquement à ce rejet en période d'étiage sévère de la rivière Chaudanne (i.e. $Q_{Rivière}$ nul).

FOLIO ADMINISTRATIF

THESE SOUTENUE DEVANT L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON

NOM : ANGERVILLE

Prénom(s) : Ruth

Date de soutenance : 18 mai 2009

TITRE :

Evaluation des risques écotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau :
Application à une ville française et à une ville haïtienne

Nature : Doctorat

Numéro d'ordre : 2009-ISAL-0034

Ecole Doctorale : Ecole Doctorale de Chimie de Lyon (Chimie, Procédés, Environnement)

Spécialité : Sciences de l'Environnement Industriel et Urbain

Cote B.I.U. - Lyon :

CLASSE :

RESUME :

Les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) contiennent des polluants, sous forme soluble ou particulaire, issus du lessivage des bassins-versants qu'ils drainent. Ces rejets sont le plus souvent déversés dans les milieux récepteurs, en particulier les cours d'eau péri-urbains, sans traitement préalable. Il en résulte, dans certaines configurations, un risque de toxicité pour les écosystèmes des milieux concernés. Cette thèse propose 2 démarches méthodologiques pour évaluer les risques écotoxicologiques (EDREcotox) liés à un tel scénario: une démarche *a priori* et une démarche *a posteriori*. La démarche *a priori* a été développée selon 3 approches complémentaires de caractérisation des effets écotoxicologiques: i) une «approche substances», ii) une «approche substances avec effets combinés» et iii) une «approche matrice». Cette démarche *a priori* a été par la suite appliquée à un scénario d'une ville française et à un scénario d'une ville haïtienne. Pour une optimisation de la méthodologie proposée dans le cadre de la démarche *a priori*, nous avons procédé, dans un premier temps, à une étude de l'écotoxicité et des effets combinés des principaux polluants généralement présents dans les RUTP, vis-à-vis de *Daphnia magna* puis de *Pseudokirchneriella subcapitata*. En ce qui concerne l'«approche matrice», nous avons procédé à une caractérisation écotoxicologique d'échantillons de RUTP provenant des 2 sites étudiés. La démarche *a posteriori* a été développée sur la base d'une comparaison entre un «état amont» et un «état aval», par rapport au point de déversement des RUTP dans la rivière du site français, pour 3 horizons (eau de surface, zone benthique et zone hyporhéique). L'application de ces 2 démarches méthodologiques a conduit à des résultats cohérents qui mettent en évidence un risque important pour les organismes du cours d'eau récepteur, avec une accentuation de ce risque pour les organismes des zones benthique et hyporhéique. Au titre des perspectives, la poursuite du développement de ces premières méthodologies pourra prendre en compte certains aspects additionnels comme la biodisponibilité des polluants, leur bioaccumulation, etc.

MOTS-CLES : RUTP ; Métaux ; Ammonium ; Effets combinés ; Bioessais mono-spécifiques ; Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) ; Cours d'eau ; Approche *a priori* ; Approche *a posteriori*.

Laboratoires : Laboratoire des Sciences de l'Environnement (LSE) de l'ENTPE à Vaulx-en-Velin (France)
Laboratoire de Qualité de l'Eau et de l'Environnement (LAQUE) de l'UniQ à Port-au-Prince (Haïti)

Directeurs de thèse : Yves PERRODIN et Evens EMMANUEL

Président de jury : Rémy GOURDON

Composition du jury : Gérard BLAKE, Jacques BOURGOIS, Rémy GOURDON, Yves PERRODIN, Evens EMMANUEL, Christine BAZIN et Pascal BREIL

Evaluation Des Risques Ecotoxicologiques liés au déversement de Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) dans les cours d'eau :

Application à une ville française et à une ville haïtienne

Résumé

Les Rejets Urbains par Temps de Pluie (RUTP) contiennent des polluants sous forme soluble ou particulaires, issus du lessivage des bassins-versants qu'ils drainent. Ces rejets sont le plus souvent déversés dans les milieux récepteurs, en particulier les cours d'eau péri-urbains, sans traitement préalable. Il en résulte, dans certaines configurations, un risque de toxicité pour les écosystèmes des milieux concernés. Cette thèse propose deux démarches méthodologiques pour évaluer les risques écotoxicologiques (EDREcotox) liés à un tel scénario: une démarche *a priori* et une démarche *a posteriori*. La démarche *a priori* a été développée selon 3 approches complémentaires de caractérisation des effets écotoxicologiques: i) une «approche substances», ii) une «approche substances avec effets combinés» et iii) une «approche matrice». Cette démarche *a priori* a été par la suite appliquée à un scénario d'une ville française et à un scénario d'une ville haïtienne. Pour une optimisation de la méthodologie proposée dans le cadre de la démarche *a priori*, nous avons procédé, dans un premier temps, à une étude de l'écotoxicité et des effets combinés des principaux polluants généralement présents dans les RUTP, vis-à-vis de *Daphnia magna* puis de *Pseudokirchneriella subcapitata*. En ce qui concerne l'«approche matrice», nous avons procédé à une caractérisation écotoxicologique d'échantillons de RUTP provenant des 2 sites étudiés. La démarche *a posteriori* a été développée sur la base d'une comparaison entre un «état amont» et un «état aval», par rapport au point de déversement des RUTP dans la rivière du site français, pour 3 horizons (eau de surface, zone benthique et zone hyporhéique). L'application de ces 2 démarches méthodologiques a conduit à des résultats cohérents qui mettent en évidence un risque important pour les organismes du cours d'eau récepteur, avec une accentuation de ce risque pour les organismes des zones benthique et hyporhéique. Au titre des perspectives, la poursuite du développement de ces premières méthodologies pourra prendre en compte certains aspects additionnels comme la biodisponibilité des polluants, leur bioaccumulation, etc.

Mots-clés : RUTP ; Métaux ; Ammonium ; Effets combinés ; Bioessais mono-spécifiques ; Evaluation des Risques Ecotoxicologiques (EDREcotox) ; Cours d'eau ; Approche *a priori* ; *Approche a posteriori*.

Ecotoxicological Risk Assessment related to the discharge of Urban Wet Weather Effluent (UWWE) in the streams:

Case study for a French city and an Haitian city

Abstract

The Urban Wet Weather Effluents (UWWE) contain pollutants in dissolved or particulate form, resulting from the wash-off of the associated watershed. These effluents are generally discharged in the receiving waters, particularly in the periurban watercourses, without preliminary treatment. In some cases, this situation results in observing, in some cases, a risk of toxicity for the ecosystem of the related mediums. This study proposes 2 methodological frameworks to assess the ecotoxicological risks (EDREcotox) related to this specific scenario: an *a priori* framework and an *a posteriori* framework. The *a priori* framework was developed according to 3 complementary approaches to characterize the ecotoxicological effects: i) a "substances approach"; ii) a "substances with combined effects approach"; iii) "a whole-effluent approach". This *a priori* framework was applied thereafter to a scenario of a French city and to a scenario of an Haitian city. In order to optimize the *a priori* framework, we realized firstly a study of the ecotoxicity and of the combined effects of the main pollutants found in UWWE on *Daphnia magna* and then on *Pseudokirchneriella subcapitata*. With regard to the "whole-effluent approach", we carried out an ecotoxicological characterization of UWWE samples coming from the 2 studied sites. The *a posteriori* framework was based on the comparison between an "upstream state" and a "downstream state", both compared to the UWWE discharge point in the stream of the French site, for 3 compartments (surface water, benthic zone and hyporheic zone) of this stream. The application of these 2 methodological frameworks led to coherent results which highlight an important risk for the organisms of the receiving stream, with an emphasizing of this risk for the organisms of the benthic and hyporheic zone. For further developments, we propose to optimize these methodologies by taking into account additonnal aspects such as bioavailability, bioaccumulation, …, of these pollutants.

Keywords: UWWE; Metals; Ammonia; Combined effects; Mono-specifics bioassays; Ecotoxicological Risk Assessment (EDREcotox); Stream.