HAL
open science

Etude de la toxicité d'effluents complexes à l'aide d'un test d'inhibition de luminescence bactérienne

Claudine Rast

To cite this version:

Claudine Rast. Etude de la toxicité d'effluents complexes à l'aide d'un test d'inhibition de luminescence bactérienne. Sciences de l'environnement. Université Paul Verlaine - Metz, 1983. Français. NNT : 1983METZ007S . tel-01775655

HAL Id: tel-01775655

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775655

Submitted on 24 Apr 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE METZ

CENTRE DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

THESE D'UNIVERSITE

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE
-METZ

N° inv	19830145
Cote	S/M3 83/7
Loc	Magasin

PRESENTEE PAR

CLAUDINE RAST

ETUDE DE LA TOXICITE D'EFFLUENTS COMPLEXES A L'AIDE D'UN TEST D'INHIBITION DE LUMINESCENCE BACTERIENNE

Soutenue le 20 avril 1983 devant le Jury :

Président : Mademoiselle VASSEUR P., Professeur

Examinateurs : Monsieur BLOCK J.C., Professeur

Madame SCHWARTZBROD J., Professeur

Monsieur WEINGERTNER, Ingenieur

Monsieur FERARD J.F., Assistant

AVANT-PROPOS

Cette étude a été effectuée au Laboratoire de Toxicologie du Centre des Sciences de l'Environnement de l'Université de Metz.

Que le Président de ma thèse, Mademoiselle le Professeur Vasseur, qui a su me guider par la richesse et la clarté de ses conseils ainsi que par son expérience, trouve dans ce travail l'expression de ma gratitude.

Je suis vivement reconnaissante à Monsieur le Professeur Block pour avoir accepté de juger cette thèse. Je le remercie pour sa ténacité, ses exigences et ses encouragements.

Que Madame le Professeur Schwartzbrod et Monsieur Weingertner trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu me manifester en acceptant de se joindre à ce jury.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur Férard pour sa coopération et sa présence parmi les examinateurs.

Que Pascale, à qui est revenue la tâche délicate de la présentation de cette thèse et Jacqueline pour son aide dactylographique, trouvent ici toute ma reconnaissance.

Je remercie Marcelle Grunfelder pour sa collaboration aux tâches imposées par ce travail.

. SOMMAIRE .

	page
INTRODUCTION	1
I - GENERALITES	
I-1) L'Ecotoxicologie	2
II-2) Les tests d'écotoxicité	3
I-2-a) Le test algue	4
I-2-b) Le test daphnie	5
I-2-c) Le test poisson	6
I-2-d) Les tests bactériens	6
II - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	9
III - DETERMINATION DE LA TOXICITE D'EFFLUENTS PAR LE TEST MICROTOX	
III-1) But de l'étude	16
III-2) Principe du test	16
III-3) Matériel et méthode	16
III-3-a) Appareillage	17
III-3-b) Matériel biologique	18
III-3-c) Effluents à tester	19
III-3-d) Mode opératoire	19
III-4) Expression des résultats	22
- Δ %	22
- Coefficient Γ	24
IV - APPLICATION DU TEST MICROTOX A UN SCREENING DE TOXICITE SUR EFFLUENTS	
IV-1) Présentation du site	27
IV-2) Stratégie de prélèvements	
IV-2-a) Points de prélèvement	27
1 - Site industriel	27
2 - Réseau domestique	29
3 - Station d'épuration	30
4 - Prélèvements divers	30

page

IV-2-b) Chronologie des prélèvements 30
IV-2-c) Echantillonnage et conservation 31

IV-3) Analyses

IV-3-a) Chronologie des essais 31
IV-3-b) Préparation des échantillons 32
IV-3-c) Détermination du temps d'exposition 32
IV-3-d) Contrôle de la toxicité des "flacons témoins" 33
IV-3-e) Expression des résultats 33

IV-4) Résultats

IV-4-a) Résultats de toxicité par site 35

1 - Sites industriels

. Centres I et III 35
. Centre II 38
. Centre IV 40
. Centres V, VI, VII 41
. Centres VIII, IX 45
. Canal Rejets Industriels 50

2 - Réseau Ménager

. Collecteurs CRD 2 et CRD 3 50
. Collecteur principal CRD 1 53

3 - Stations d'épuration

. STEP I 53
. STEP D 59

IV-4-b) Comparaison de la toxicité des effluents d'un même site à dilution équivalente 59

IV-4-c) Comparaison de la toxicité des effluents d'un même site à Δ % identique 66

IV-4-d) Comparaison de la toxicité d'un même échantillon décanté ou non décanté 67

IV-4-e) Evolution de la toxicité dans le temps 69

page

IV-4-f) Etude des phénomènes de synergie toxique des effluents 72

IV-4-g) Comparaison des résultats de toxicité enregistrée par le test Microtox et le test daphnie 74

V - DISCUSSION

. Screening de toxicité 78
. Variations de la toxicité 81
. Efficacité des stations d'épuration 85
. Effet de la décantation sur la toxicité 86
. Evolution de la toxicité dans le temps 86
. Répétabilité du test Microtox 86
. Sensibilité du test d'inhibition de luminescence 89
. Stimulation de la bioluminescence 94
. Méthodologie 95

CONCLUSION 97

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 99

ANNEXE 1 102

ANNEXE 2 111

_°_°_°_°_°_

INTRODUCTION

De nombreux tests biologiques ont été proposés et normalisés au cours de ces dernières années pour évaluer la toxicité des eaux.

Ces tests sont réalisés sur poissons, crustacés, microcrustacés, mollusques et algues. Ils ont été conçus de manière à présenter les qualités suivantes :
- représentativité
- sensibilité
- rapidité
- simplicité
- prix de revient réduit.

Peu de tests répondent simultanément à toutes ces exigences et si l'on accorde, en toxicologie, une grande importance à la représentativité et à la sensibilité, les autres caractères, relatifs à la facilité d'exécution sont tout aussi prépondérants dans le cadre de screening de toxicité à grande échelle. Ceci implique de réaliser des essais en série, et par voie de conséquence de mettre en oeuvre des tests rapides, simples et impérativement peu onéreux.

C'est dans ce contexte de la recherche de tests toujours plus performants que certains auteurs se sont intéressés aux propriétés luminescentes de certaines bactéries marines et à mettre au point un test de toxicité basé sur l'inhibition de cette bioluminescence sous l'influence de substances toxiques.

L'utilisation de ce test est assez répandue aux Etats Unis et au Canada pour les contrôles de la toxicité des eaux. Les propriétés de ce test bactérien réputé être aussi sensible et représentatif que les tests biologiques classiques, pour une simplicité, une rapidité nettement supérieure restent par contre quasiment inexploitées en Europe.

Ceci nous a conduits à utiliser et à étudier les performances de ce test d'inhibition de luminescence bactérienne appelé communément "test Microtox" dans le cadre d'un screening de toxicité, à grande échelle, d'effluents domestiques et industriels.

_°_°_°_°_°_

I - GENERALITES -

Ce travail s'inscrit dans le cadre des études écotoxicologiques et plus particulièrement des tests d'écotoxicité dont il constitue une application directe à la détermination de la pollution hydrique.

Avant d'en exposer le sujet et les résultats, nous rappellerons quelques définitions fondamentales concernant la discipline qu'est l'ECOTOXICOLOGIE.

I-1) L'Ecotoxicologie

La Toxicologie est "la science des poisons étudiant leurs propriétés, leur mode d'action, les procédés applicables à leur recherche, les moyens de combattre leur action nocive". (TRUHAUT - 1974)

Dès lors, l'Ecotoxicologie peut se définir comme une science dont l'objet est l'étude des modalités de contamination de l'environnement par les agents polluants naturels ou artificiels produits par l'activité humaine ainsi que de leurs mécanismes d'action et de leurs effets sur l'ensemble des êtres vivants qui peuplent la biosphère.

En 1978, le Professeur JOUANY précisait cette définition de l'Ecotoxicologie comme étant "l'étude des effets de toute nature des toxiques sur toutes les espèces vivantes, leurs organisations, leurs rapports avec la matière inanimée, leurs rapports entre elles et avec l'homme".

La naissance de cette discipline, relativement récente, résulte du développement rapide de notre industrie, de notre agriculture et de notre vie sociale durant les deux dernières décennies.

Méconnus ou plutôt ignorés pendant trop longtemps, les problèmes de pollution sont devenus un sujet de préoccupation dans tous les pays industrialisés.

La multiplication des produits chimiques, leurs divers domaines d'application, font que leur dissémination dans la nature est non seulement de plus en plus importante mais aussi de plus en plus étendue donc difficilement contrôlable.

La prise de conscience de leurs nuisances éventuelles - qui sévissaient parfois de longue date - sur l'environnement, a conduit les autorités législatives à prendre des décisions concrètes, destinées à mettre un terme au dangereux processus dans lequel la civilisation technologique est engagée.

Mais cette lutte efficace contre la contamination et l'établissement d'une législation adéquate, imposent une connaissance scientifique des modalités de pollution et de ses effets sur l'ensemble des êtres vivants : ceci constitue les principaux aspects de l'Ecotoxicologie, particulièrement étudiés au cours de ces dernières années.

Afin d'évaluer l'impact d'une contamination sur les écosystèmes et d'en prévoir les effets, il est apparu nécessaire d'effectuer en laboratoire des essais simulant le plus parfaitement possible les phénomènes susceptibles d'apparaître dans l'environnement.

Les tests d'écotoxicologie consistent à étudier l'action d'une ou de plusieurs substances toxiques sur des organismes vivants, cultivés ou élevés en laboratoire et sélectionnés pour leur caractère représentatif des espèces peuplant les écosystèmes naturels.

1-2) Les tests d'écotoxicité

Les tests d'écotoxicité effectués en laboratoire ont pour but d'évaluer la toxicité aiguë et à long terme de tout composé présumé nocif et susceptible de contaminer l'environnement.

Deux démarches peuvent être envisagées pour déterminer la toxicité aiguë d'une substance chimique ; elles consistent à étudier la mortalité :

. soit après un temps constant en fonction de doses croissantes de toxique (dose létale 50 %)

. soit après intoxication à dose constante en fonction du temps (détermination du temps létal moyen)

Dans le cadre d'un dépistage de toxicité des eaux, il est fait appel à des tests utilisant des organismes représentatifs des écosystèmes aquatiques dulçaquicoles. Deux types de tests sont utilisés : . les tests intégrés
. les tests directs

Les tests d'écotoxicité indirects ou intégrés permettent d'évaluer la toxicité sur plusieurs espèces constituant un microécosystème ou une chaîne trophique expérimentale simplifiée.

Les tests d'écotoxicité directs, les plus développés à l'heure actuelle, sont destinés à mettre en évidence la toxicité sur une espèce isolée.
Ils concernent plus spécialement : . les algues
. les daphnies
. les poissons
. et les bactéries

I-2-a) **Le test algue**

Le test a pour but de déterminer le taux d'inhibition de croissance de différentes espèces d'algues (*Chlorella vulgaris*, *Selenastrum caprinortum*, *Scenedesmus subspicatus*) par une substance soluble ajoutée au milieu d'essai (milieu nutritif de composition variable) dans des conditions de culture bien définies : . volume de culture
. température
. luminosité
. photopériode

La détermination de la concentration qui en cinq jours, inhibe 50 % de la croissance algale est exprimée par la CI_{50} - 5 jours.

Dans le cadre de certains protocoles de tests normalisés, (AFNOR en particulier), il peut être demandé d'accompagner cette valeur de CI_{50}, de la CI_{50} - 5 jours d'une substance de référence comme le dichromate de potassium ($Cr_2O_7K_2$), ce qui permet de déterminer la sensibilité de l'espèce algale et de comparer les résultats de toxicité, obtenus dans des laboratoires différents. (annexe 1)

I-2-b) Le test daphnie

Cette méthode a pour objet de déterminer l'inhibition à court terme de la mobilité d'un crustacé cladocère (*Daphnia magna* straus) communément appelé daphnie.

La daphnie est très utilisée pour étudier la qualité d'une eau et notamment mettre en évidence la présence de substances toxiques dans les rejets domestiques et industriels.

La concentration dite concentration inhibitrice, qui en vingt quatre heures, immobilise 50 % des daphnies, constitue le critère de toxicité aiguë classiquement déterminé par la CI_{50} - 24 heures.

Comme pour le test algue, les conditions opératoires sont bien définies :
- . température
- . matériel biologique homogène
- . eau de dilution

Normalisé par l'AFNOR, cet essai est doublé d'un essai référence avec du dichromate de potassium de façon à vérifier la conformité du réactif biologique.(annexe 1)

Le test daphnie à court terme, est le seul test reconnu officiellement au niveau national pour évaluer la toxicité des effluents. Néanmoins, il pose de nombreux problèmes (conditions d'élevage, variabilité, facteur de correction ...)

I-2-c) Le test poisson

Le test consiste à déterminer la toxicité aiguë d'une substance soluble dans l'eau, vis à vis d'espèces de poissons comme Brachydanio rerio, Cyprinus carpio, Fathead minnow, Pimephales promelas ...

La concentration qui en vingt quatre heures, tue 50 % des poissons mis en expérimentation ou concentration létale 50 est exprimée par la CL_{50} - 24 heures.

Une série d'impératifs se greffe à ce test :

- lot de poissons homogène habitué au milieu huit à dix jours auparavant
- conditions de luminosité, de température
- milieu d'élevage

Dans le cadre du test AFNOR, ce test est interprété en tenant compte des résultats d'un test au dichromate de potassium, utilisé comme substance de référence.

I-2-d) Les tests bactériens

Plusieurs types de tests peuvent être envisagés sur des populations bactériennes isolées.
Les effets toxiques sont étudiés à partir :

- de la croissance bactérienne

  La numération sur gélose et la turbidimétrie sont les deux techniques permettant d'apprécier l'évolution d'une population bactérienne. Ces deux techniques sont très peu sensibles.(BLOCK et al 1976)

- de l'activité enzymatique bactérienne

  De nombreux systèmes enzymatiques, interviennent dans le fonctionnement des bactéries. Le dosage d'une ou de plusieurs de ces activités enzymatiques (déshydrogénase, glucose-oxydase par exemple), peut nous permettre de dépister et d'évaluer une éventuelle toxicité (méthode par spectrométrie ou par kits).

. de la teneur en Adénosine Triphosphate (ATP)

L'ATP est présente dans toutes cellules vivantes. Son dosage est réalisé par mesure de la quantité de photons émis au cours de la réaction suivante :

luciférine + ATP $\rightleftharpoons$ oxyluciférine + hv

La teneur en ATP dépend du type de bactéries et de son état physiologique d'où nécessité de standardiser le protocole.

. de l'intensité de la bioluminescence pour les bactéries présentant ces caractères physiologiques. (figure 1)

Ce test de toxicité, réalisé dans ce contexte, consiste à mesurer la diminution de luminescence bactérienne, diminution induite par la présence de substances toxiques dans le milieu.

Le " test Microtox " qui fait l'objet de notre étude est basé sur ce principe.

Quel que soit le type du test envisagé, la validité de l'essai est conditionnée par le respect de certaines règles essentielles tant au niveau méthodologique qu'à celui de l'expression des résultats, il faut :

. rassembler un échantillon aussi homogène que possible de l'espèce testée par sélection d'organismes identiques (espèce, âge, taille, poids, sexe).

. opérer dans des conditions expérimentales strictement définies et constantes pendant toute la durée du test.

. recueillir avec discernement les données numériques des expériences et les analyser avec une méthode statistique appropriée.

_°_°_°_°_°_

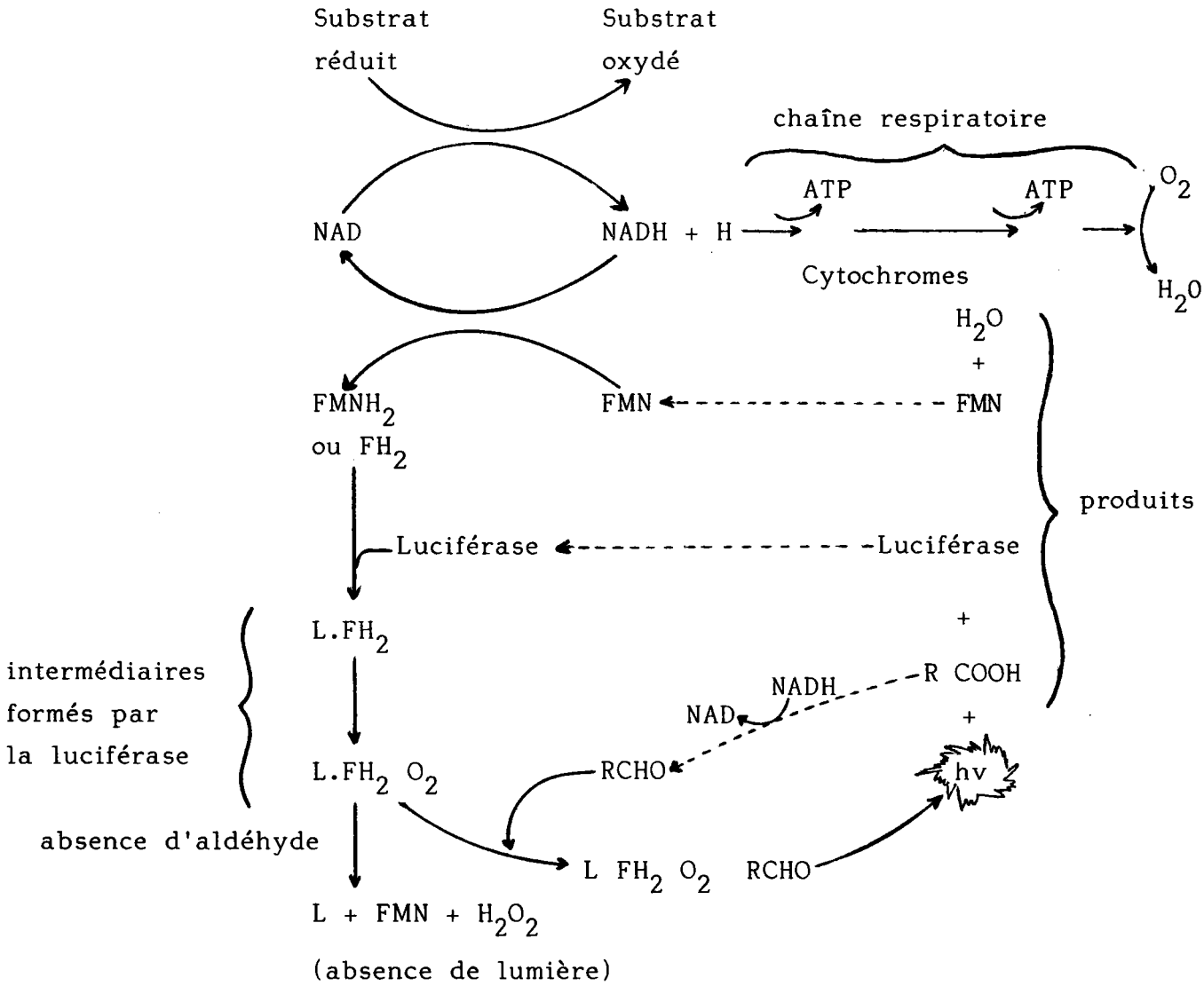


Figure 1 : **Métabolisme producteur de la bioluminescence**

II - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE -

Dans le cadre de screening de toxicité de substances chimiques en solution, la nécessité de disposer de tests biologiques simples, rapides, de coût réduit, permettant de réaliser des essais en série, a conduit à la mise au point d'une méthode d'évaluation de la toxicité basée sur le phénomène de bioluminescence bactérienne.

. La mise au point de ce test MICROTOX TM (Beckman Instruments), résulte des travaux de BULICH en 1977. Il est basé sur les propriétés luminescentes d'une bactérie marine du type " Photobacterium phosphoreum ".

Son principe consiste à évaluer la diminution de cette bioluminescence lorsque ces bactéries sont en présence de substances toxiques ajoutées au milieu réactionnel et cela par comparaison à un témoin réalisé dans les mêmes conditions.

. La diminution de luminescence est directement liée à la concentration du toxique, ainsi que l'a montrée SENAT (1965).

La mesure de la bioluminescence est effectuée après quelques minutes de contact " bactéries - toxique " (après 5, 10, 15 voire 30 minutes par exemple) ce qui en fait un test rapide, bien adapté à l'étude de la toxicité aiguë au même titre que les tests à court terme effectués sur les poissons ou les daphnies.

Ce test, encore peu connu en Europe, a fait l'objet d'études importantes aux Etats Unis et au Canada, où il est utilisé couramment pour le contrôle des rejets industriels et des effluents urbains.

. Dès 1978 BULICH ET GREENE, incluent avec succès ce test parmi d'autres pour l'évaluation de la qualité des eaux.

. K.H ROBRA s'est intéressé plus particulièrement au problème de la souche bactérienne. Il souligne l'importance de la phase de croissance de ces organismes dans l'intensité de la bioluminescence dont dépend essentiellement la sensibilité du test.(1979)

Le test Microtox nécessite ce préalable fondamental pour une bonne standardisation.

. Un screening de la toxicité des produits chimiques a été entrepris par BULICH en 1979.

Après une étude de la reproductibilité qui s'est avérée satisfaisante, l'auteur a comparé les EC_{50} - bactéries avec les LC_{50} - 96 heures poissons (Pimephales promelas). Il conclut :

- que le taux de variation du test bactérien est compris entre 2 et 16 %.
- que la reproductibilité des EC_{50} - bactéries est supérieure à celle des LC_{50} - poissons, et ceci pour la plupart des produits chimiques
- qu'il y a possibilité d'établir des relations entre les EC_{50} et les LC_{50} par classes chimiques.

  Exemple : pour les alcools, la corrélation entre LC_{50} et EC_{50} peut s'exprimer par :

  $$LC_{50} = 0,7645 \quad EC_{50} + 0,6668 \qquad R^2 = 0,96$$

  Si ce type de formule paraît d'un grand intérêt, il serait néanmoins audacieux, de les exploiter d'ores et déjà (le nombre d'essais étant insuffisant pour justifier une telle interprétation).

. Dans une autre étude BULICH et al (1981) déterminent la fiabilité de la bioluminescence pour la détermination de la toxicité non seulement de composés purs mais d'effluents complexes.
Ils ont particulièrement étudié la reproductibilité de la procédure en testant des concentrations de Lauryl Sulfate de Sodium. Sur quatre vingt une déterminations, le coefficient de variation de toutes les EC_{50} est voisin de 18 %.

Pour les effluents complexes, ils mettent en évidence :

- la corrélation de EC_{50} - 5' bactéries et les LC_{50} 24-96 h poissons avec une sensibilité légèrement supérieure pour le test Microtox. (figure 2)
- la non incidence du pH sur la stabilité des réponses tant qu'il demeure entre 5,5 et 8

Identification Echantillons	Test Microtox EC_{50}-5 minutes	Test poisson (Fathead minnow) LC_{50}-96 heures
AA20	1.6	21.7
KP40	2.6	2.4
AM 7.3	3.2	3.5
KP42	3.5	3.5
KP43	4.3	29
AW21.1	7.0	19
AP11.1	11.5	48
KP41	13	12.2
AP11.2	15	68
AC 6	21	17.9
AW22	21.8	42
AC34	24	13.5
AC 5	25	32
AP16.3	40	66
AF36	60	NL
AP16.1	62	52
AC 3	62	NL
AC 1	68	NL
AM 7.4	70	100
AM 7.2	74	NL
AC43	82	66
AC 8	100	21.3
AC44.2	100	74
AM 2	100	NL
AC12.2	100	NL
AC12.1	100	NL
AW21.2	NE	51
AM 7.3	NE	56
AC 4	NE	65
AP16.2	NE	75
AC45	NE	91
AC37	NE	NL
AM 7.5	NE	NL
AM10	NE	NL
AW14	NE	NL
AH18	NE	NL
AW24	NE	NL
AC19	SB	NL

NE = aucun effet
NL = non létal
SB = stimulation de la bioluminescence

Figure 2 : Comparaison des résultats EC_{50} bactéries et LC_{50} poissons (Bulich et al - 1981)

Quant à la coloration, seules les couleurs brun et rouge seraient susceptibles d'interférer (LEBSACK et al,1981).

Ce problème de solutions colorées sera définitivement résolu, par l'utilisation d'un système "double cuve" qui permettra de prendre en compte l'extinction de la luminescence due à la seule coloration de la solution à tester (BECKMAN Instruments).

Dans certains cas, on peut noter une augmentation de la luminescence pour certains effluents qui se montrent parallèlement exempts de tout effet toxique sur les autres organismes aquatiques.

. Q.M. SAMAK et R. NOISEUX (1980) dans leur étude d'application du test Microtox à des rejets d'origine pétrochimique confirmeront les résultats trouvés par les auteurs précédents en ce qui concerne le pH et soulignent la faible sensibilité des bactéries vis à vis des dérivés de l'ammoniaque et des cyanures.

Ils constatent également une corrélation entre EC_{50} - bactéries et LC_{50}-poissons (coefficient de corrélation de 0.884 entre EC_{50} et LC_{50}).

. Cette dernière notion sera constestée par C. I. WEBER (1981) lors d'un screening des eaux usées, réalisé à la fois sur les tests Microtox - Daphnies - Poissons.

. K.H. ROBRA (1979), BULICH (1979) démontrent que la diminution de bioluminescence due à la présence de composés organiques est très rapide et peut être évaluée en moins de 15 minutes. D'ailleurs, ils détermineront trois groupes de produits suivant leur temps de réponse vis à vis de la bactérie, (figure 3):

- les produits entraînant dès leur contact avec la bactérie une perte égale ou supérieure à 50 % de luminescence (ex: phénol)
- les produits dont l'évaluation de la perte de 50 % de l'émission lumineuse n'est possible qu'à partir de 10 minutes (exemple : dérivés inorganiques)
- les produits dont 50 % de perte de bioluminescence est atteinte durant les cinq premières minutes d'incubation bactéries - échantillon. Dans cette catégorie, se trouvent la plupart des produits et les effluents complexes.

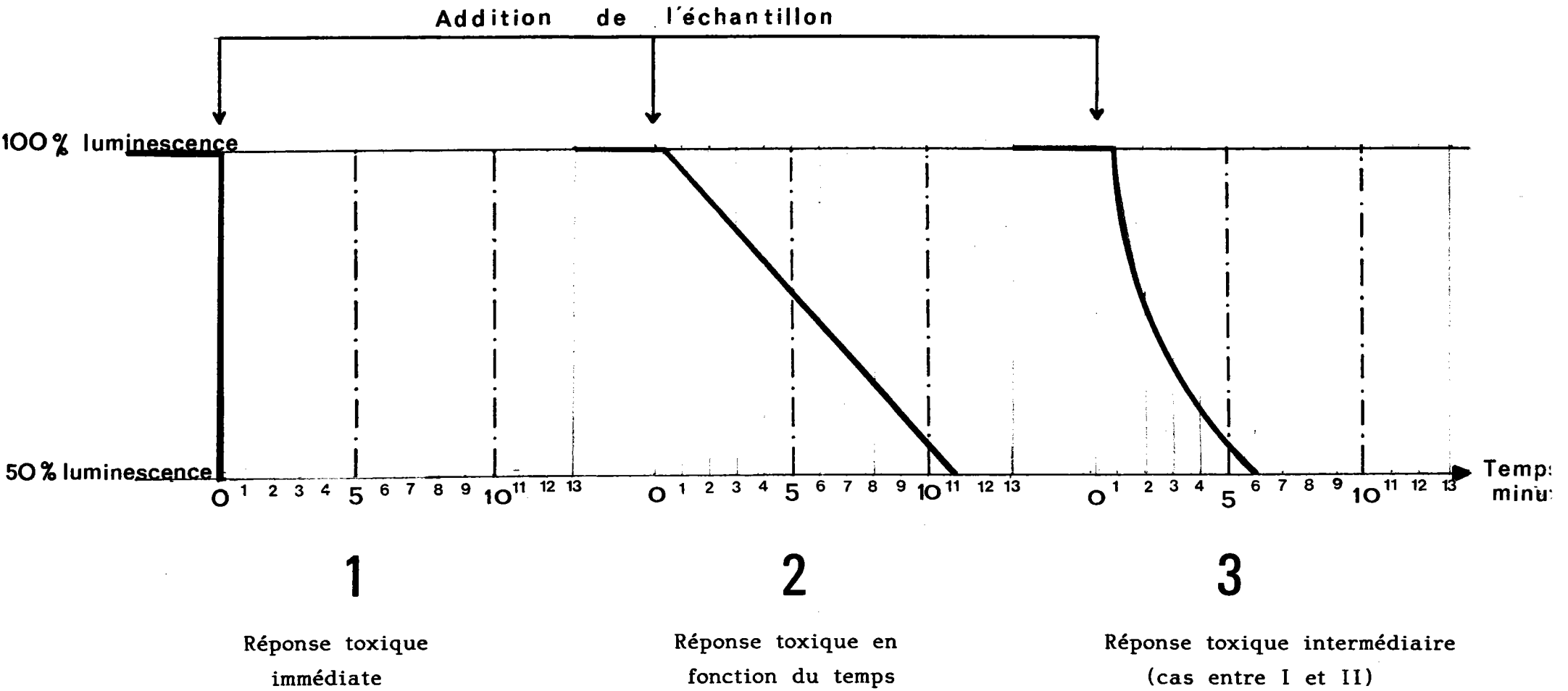


Figure 3 : Différents types de réponse des bactéries au contact d'une substance toxique

. L. DANOUX, en 1981, confirme qu'un temps de contact de 5 et 10 minutes est suffisant pour tester la toxité des rejets industriels chargés en produits de synthèse organique et des effluents urbains.

. DUTKA et KWAN (1981) ont démontré que le test Microtox était parmi les tests bactériens le plus sensible. Ils ont exposé les avantages de l'utilisation d'un tel test dans un screening de dépistage de toxicité, mais remarquent la variabilité importante des résultats d'un laboratoire à l'autre.

. En 1981, LEBSACK et al, après une étude sur les eaux de rejets des usines de traitements des combustibles fossiles ont souligné les résultats comparables du test Microtox et du test réalisé sur la truite arc en ciel.

Pour les composés phénoliques cependant, le test Microtox s'avère être plus sensible que les tests réalisés sur poissons et daphnies.

Ils préciseront que la turbidimètrie, la présence de matières en suspension, la dureté de l'eau et le pH peuvent être des facteurs capables d'interférer sur les résultats.

. A.A. QURESHI et al, en 1982, lors d'une étude comparative (bioluminescence, truite, croissance bactérienne, daphnie) sur des composés purs et des effluents complexes, ont mis en évidence la plus faible sensibilité de la luminescence bactérienne pour la plupart des composés chimiques, par rapport au test truite. Pour les effluents industriels complexes, le Microtox se montre le plus sensible.

Une corrélation des résultats est très difficile étant donné les niveaux bilogiques différents des organismes utilisés.

Le champ d'application du Microtox a rapidement dépassé le cadre du screening de toxicité d'effluents pour s'élargir à la détermination de la toxicité de micropolluants variés ainsi :

- YATES etJ.K.PORTER (1982) ont utilisé ce test pour l'évaluation de la toxicité des Mycotoxines. Dans cette étude, ils ont d'une part souligné que la sensibilité de la souche bactérienne était encore importante cinq heures après la reconstitution du réactif bactérien, d'où l'intérêt de la méthode pour des analyses à grande échelle, et que d'autre part le test Microtox s'avérait plus sensible que les tests de toxicité sur cultures de cellules animales.

- BLAISE et al (1982) utilisent le test Microtox comme moyen indirect pour évaluer le potentiel de bioaccumulation de substances toxiques des eaux usées.
  (analyse du lysat cellulaire d'algues sélectionnées pour leurs propriétés accumulatrices - Selenastrum capricornutum - préalablement exposées aux substances à tester).

Si le test Microtox ne peut remplacer à lui seul les autres tests biologiques pour l'évaluation de la toxicité aiguë, toutes les études précédentes confirment qu'il présente :

. une sensibilité au moins égale aux tests traditionnels

. une reproductibilité très acceptable pour un test biologique

. une simplicité et une rapidité d'exécution très appréciable. Elles mettent en évidence une corrélation entre les résultats de ce test et ceux des autres tests classiques (poisson - daphnie).

Ce test Microtox semble constituer un outil appréciable pour la détection de la toxicité dans les effluents les plus divers.

_°_°_°_°_°_

III - DETERMINATION DE LA TOXICITE D'EFFLUENTS PAR LE TEST MICROTOX

III-1) But de l'étude

L'objectif de cette étude est :

- de réaliser un screening de toxicité des effluents domestiques et industriels d'un site donné,
- de préciser l'évolution de cette toxicité sur une période donnée afin de déterminer les jours de pointe éventuelle de la pollution,
- de vérifier l'exactitude du choix des rejets quant à leur destination directe dans la nature ou à leur passage en station d'épuration,
- d'évaluer la variation des résultats en réalisant chaque analyse en trois exemplaires en utilisant des souches bactériennes différentes.

Des points de vue pratique, financier et rapidité, l'emploi du Microtox s'avérait intéressant pour une étude d'une telle ampleur (plus de deux cents échantillons).

Il était difficile d'envisager l'utilisation d'un test biologique classique du type test daphnie ou poisson.

III-2) Principe du test

Le principe du "test Microtox" consiste à évaluer la diminution de la luminescence bactérienne en présence de substances toxiques ajoutées au milieu réactionnel et cela par comparaison à un témoin réalisé simultanément.

III-3) Matériel et méthode

III-3-a) Appareillage (figure 4)

Le Microtox modèle 2055, commercialisé par la Société BECKMANN, est un photomètre à affichage numérique, comportant :

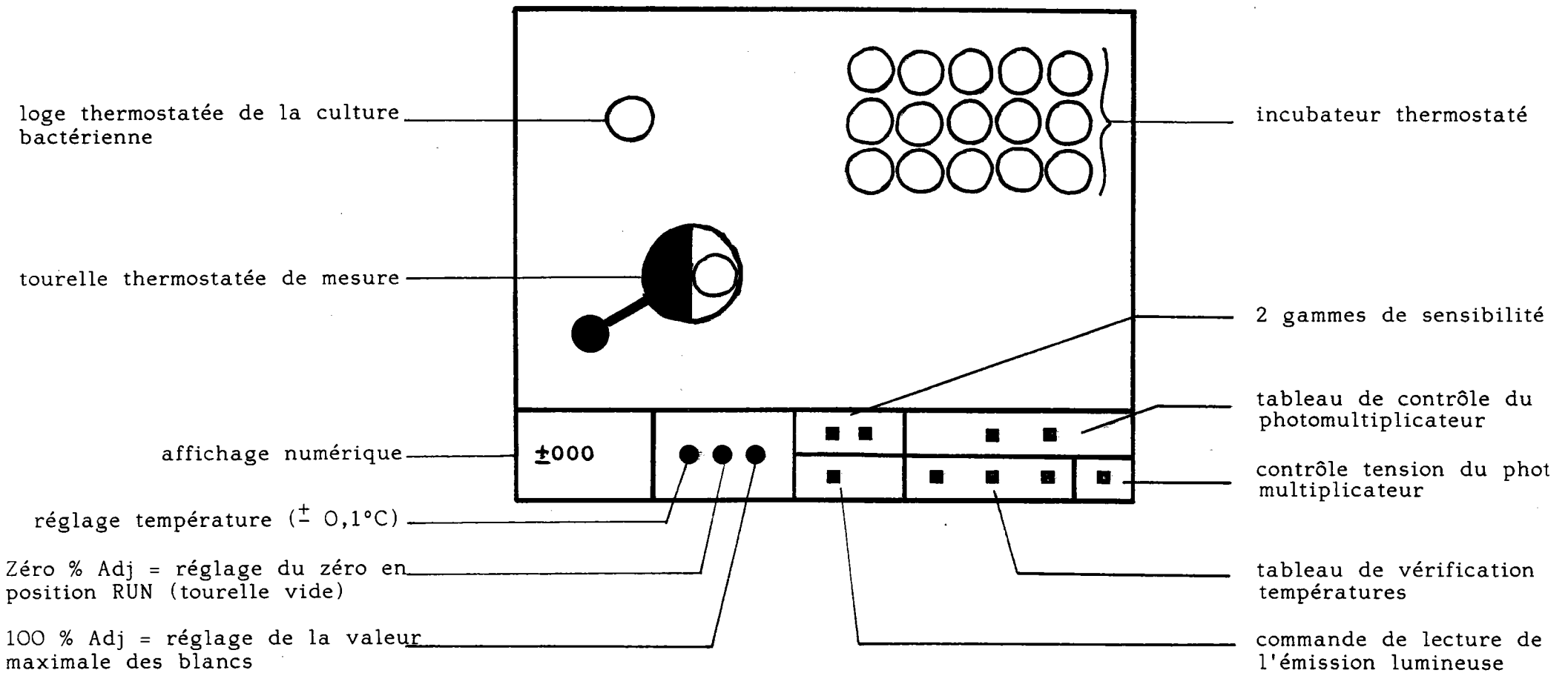


Figure 4 : Schéma général du Microtox

. une chambre d'incubation des solutions à tester, thermostatée et réglable, munie d'un système de ventilation qui évite la formation de vapeur d'eau sur les cuves de lecture.

. une loge à température constante - 3°C - pour la conservation de la souche.

. une tourelle de mesure thermostatée (thermostat couplé avec l'incubateur).

Il est relié à un enregistreur dont le tracé est un pic de hauteur proportionnelle à la bioluminescence mesurée au temps t donné (figure 5).

Le photomètre dispose d'un affichage numérique utilisé à la fois pour la vérification de la tension électrique (700mV) de la cellule de mesure, pour le contrôle des températures (tourelle - incubateur - loge bactérienne) et pour l'obtention des valeurs de bioluminescence.

La température choisie pour l'expérience est réglable à ± 0,1° C à l'aide d'une vis micrométrique. La gamme de température peut aller de 10°C à 25°C sans rencontrer de problème particulier.

III-3-b) Matériel biologique

Les bactéries luminescentes, sont des bactéries marines = Photobacterium phosphoreum - NRRL B 111 77 (Photobacterium fisheri). La souche est fournie par la Société BECKMAN. Elle est lyophillisée, en flacons en verre, contenant approximativement 10^8 bactéries. Elles sont stockées à - 20°C.

Au moment de l'emploi, la suspension bactérienne est reconstituée par addition d'un millilitre d'eau bidistillée et conservée à 3°C.

La bioluminescence des bactéries s'affaiblit avec le temps . Cette diminution est assez conséquente sitôt la reconstitution.

Il est donc nécessaire de laisser la souche bactérienne se stabiliser (faible vitesse de perte de luminescence) avant de commencer les tests. (figure n° 5)

Néanmoins, ce réactif conserve une activité suffisante pendant quatre heures, voire cinq ou six heures. Au-delà, la luminescence beaucoup plus faible, est toutefois mesurable en utilisant la gamme supérieure de sensibilité (X10).

En réalité, nous avons peu utilisé cette possibilité et avons préféré renouveler le réactif dès que l'activité luminescente était trop atténuée, les tracés de l'enregistreur, obtenus à la sensibilité la plus forte étant trop imprécis.

III-3-c) Effluents à tester

Les dilutions d'effluents à tester doivent contenir impérativement 2 % de NaCl afin que les bactéries luminescentes demeurent en milieu salin constant.

La préparation de ces dilutions est effectuée à l'aide d'une solution concentrée de NaCl (22 %), de façon à respecter facilement cette concentration saline finale.

III-3-d) Mode opératoire (figure 6)

Le mode opératoire est le suivant :

- préparation des tubes de mesure contenant 500 µl d'une solution saline à 2 % dite solution de dilution - stabilisation à 15°C pendant dix minutes.
- ajout de 10 µl de solution bactérienne stabilisée dans chacun des tubes de mesure. Incubation de plusieurs minutes à 15°C.
- après réglage du "zéro % Adj", mesure de la bioluminescence.
- sélection des tubes présentant une bioluminescence voisine.

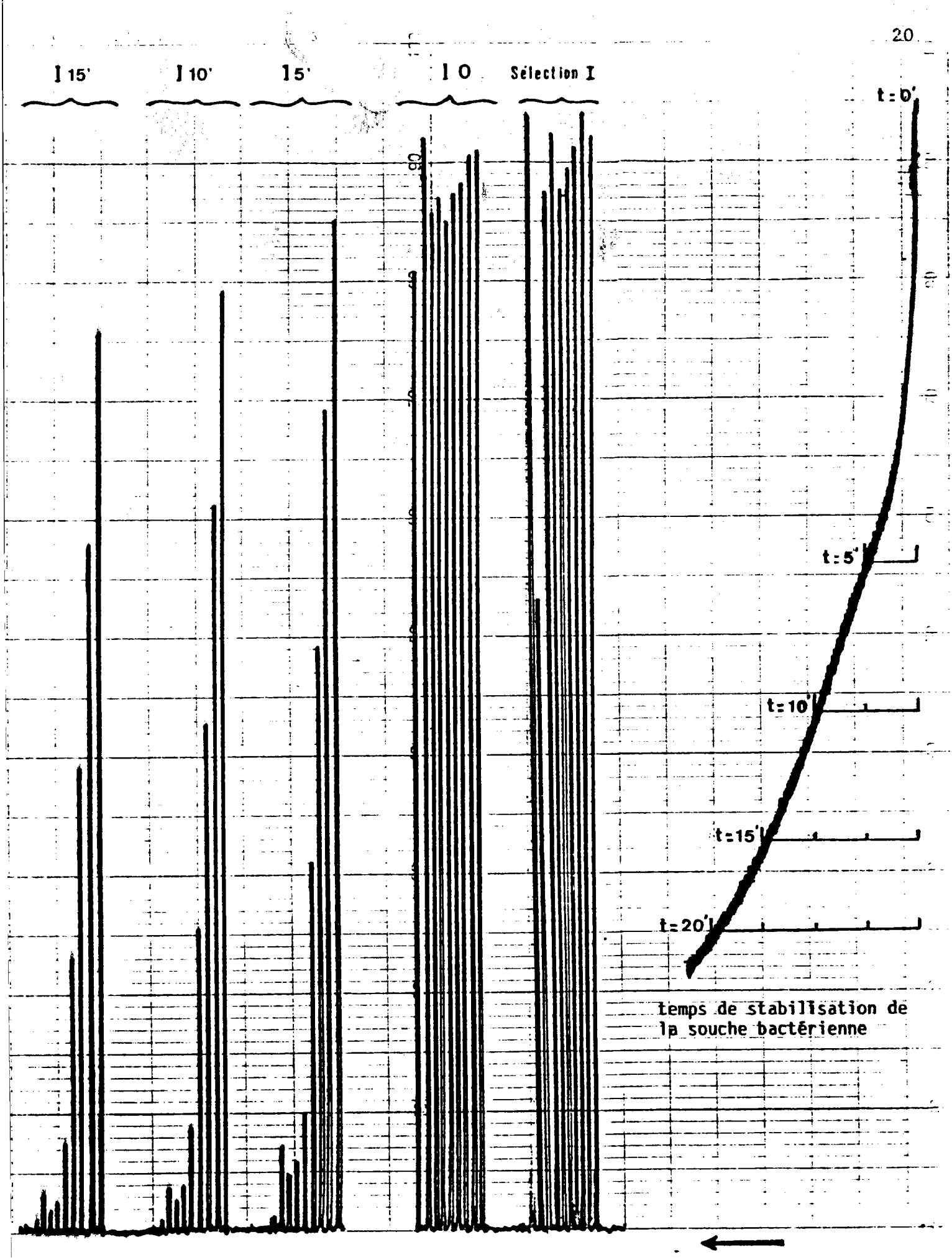
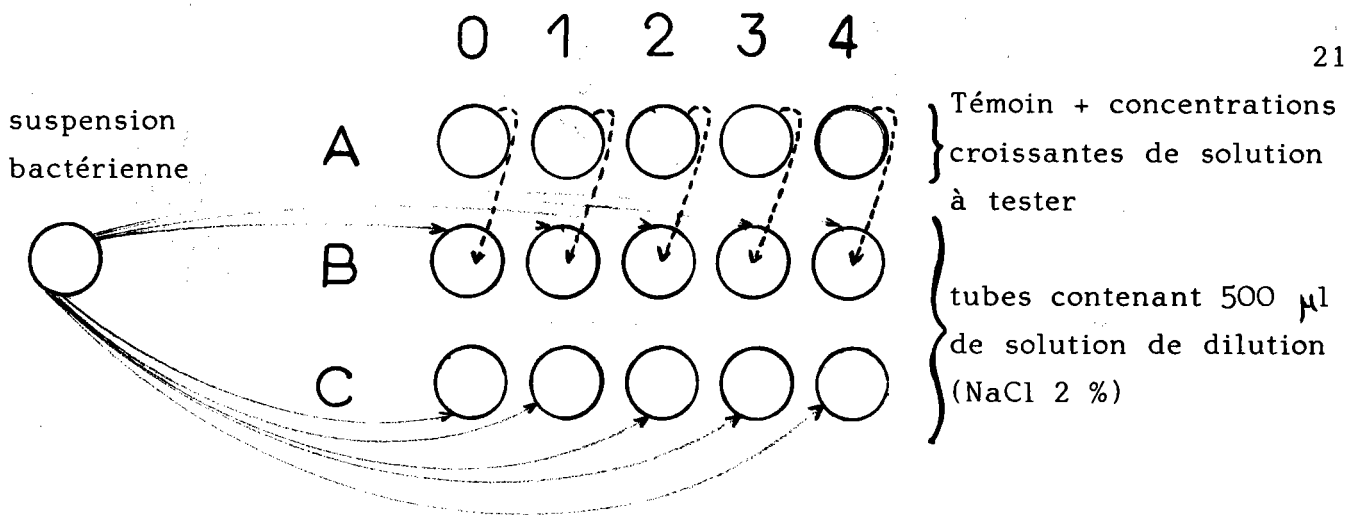


Figure 5 : Enregistrement de la luminescence des bactéries après 5 à 15 minutes



⟶ 1ère étape : addition de 10 µl solution bactérienne ⟶ sélection Io

- - -⟶ 2ème étape : addition effluent à tester ⟶ lecture $I_{5'}$. $I_{10'}$

Figure 6a : Mode opératoire au niveau incubateur

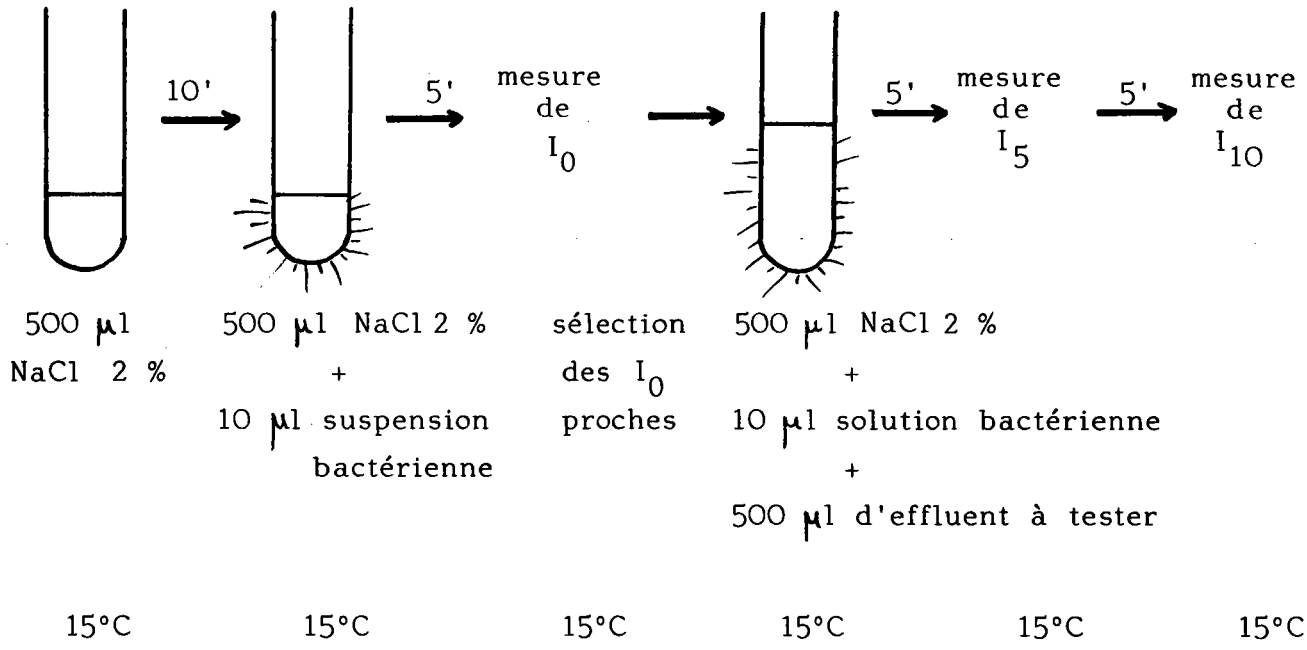


Figure 6b : Protocole d'une analyse effectuée à l'aide du test Microtox

Figure 6 : MODE OPERATOIRE DU TEST MICROTOX

- après réglage du "100 % Adj" (réglage de la hauteur maximale des pics), mesure définitive de la bioluminescence au temps t = O (I_0).
- ajout de 500 µl de dilutions d'effluents à tester. laisser à 15°C.
- après cinq, dix minutes (ou plus) de contact, la bioluminescence résiduelle est mesurée tant dans les tubes témoins, que dans les tubes ayant reçus la solution à tester (série de It = bioluminescence au temps t).

Le test définitif est précédé d'un test préliminaire afin de pouvoir déterminer un intervalle de taux de dilutions susceptible de diminuer la bioluminescence de 100 à O %.

III-4) Expression des résultats

L'évaluation des CE_{50} ou concentration entraînant 50 % de diminution de la bioluminescence après un temps de contact t à la température t°C peut être réalisée par deux procédés différents :

1) en calculant le pourcentage de diminution de lumière par rapport à la lumière initiale I_0 (BULICH, 1979) soit Δ % qui répond à la formule suivante :

$$\Delta\,\% = \frac{I_0 - I_t}{I_0} \times 100$$

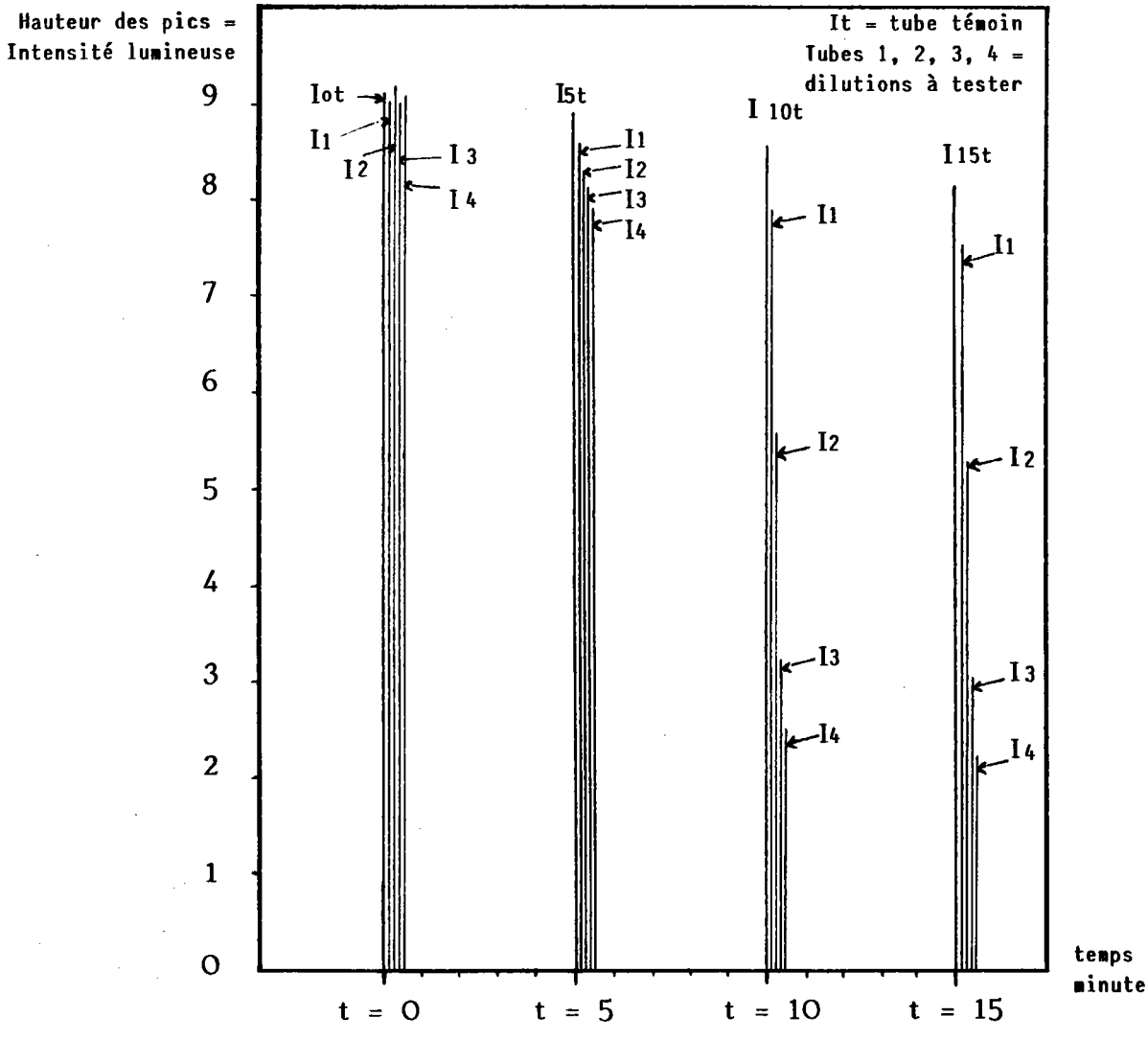
Δ % est calculé en pondérant I_0 par le rapport des intensités lumineuses des témoins aux temps O et t ($\frac{I_t}{I_0}$ témoin) afin de tenir compte de l'atténuation spontanée de la bioluminescence au cours du temps, indépendante de tout phénomène toxique (Ce rapport est désigné sous le sigle BR ou Blank Ratio). Nous obtenons alors :

$$\Delta\,\% = \frac{I_0 \text{ essai} \times BR - I_t \text{ essai}}{I_0 \text{ essai} \times BR} \times 100$$

où : . I_0 essai = bioluminescence de la solution bactérienne au temps t = 0 (tube destiné à recevoir l'échantillon)

. I_t essai = bioluminescence de la solution bactérienne au temps t = 5 ou 10 minutes (tube après 5 ou 10' de contact bactéries-échantillon)

. $BR = \frac{I_t \text{ témoin}}{I_0 \text{ témoin}}$



Exemple de graphe

La CE_{50-t} est déterminée graphiquement en reportant les résultats sur papier semi-logarithmique.

2) en calculant la valeur du rapport de la lumière perdue à la lumière restante, soit le coefficient Γ

$$\Gamma = \frac{I_0 - I_t}{I_t}$$

Comme dans l'évaluation précédente, le calcul doit tenir compte de la diminution de la bioluminescence en faisant intervenir le facteur BR
d'où :

$$\Gamma = \frac{(I_0 \text{ essai } X \text{ BR}) - I_t \text{ essai}}{I_t \text{ essai}}$$

La CE_{50} est déterminée graphiquement en reportant les valeurs de Γ sur papier log - log (figure 8). La droite de régression permet de déterminer la CE_{50-t} ou concentration du toxique après un temps t provoquant une diminution de 50 % de lumière, ce qui correspond à la valeur de $\Gamma = 1$ (JOHNSON et al, 1974 - figure 7)

L'allure de la courbe, représentant le pourcentage de diminution de la bioluminescence en fonction du log de la concentration, est quasiment linéaire si l'effet toxique est évalué à l'aide des valeurs logarithmiques de Γ, ce qui simplifie la détermination graphique de la valeur de la CE_{50} (figure 8)
Néanmoins, si la diminution de bioluminescence est exprimée par les valeurs de Δ %, la CE_{50} obtenue est identique, à condition de ne prendre en compte que les valeurs d'inhibition situées sur la partie linéaire de la courbe sigmoïdale (valeurs proches de 50 %).

Lorsque la toxicité de l'échantillon est relativement faible, l'inhibition provoquée par l'effluent à sa plus haute concentration n'excède pas 50 %. Il n'est donc pas possible d'établir une CE_{50}. Dans de telles conditions, la toxicité est exprimée uniquement par la valeur du Δ % obtenue pour la plus haute dilution possible (45 %).

_°_°_°_°_°_

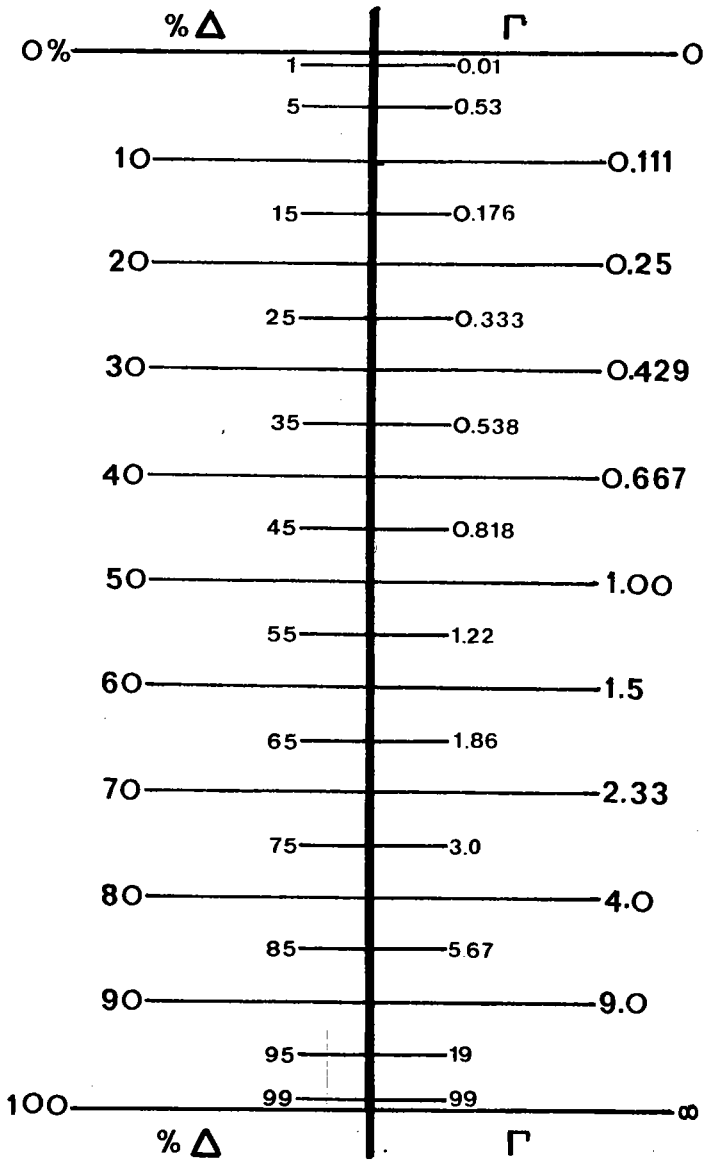


Figure 7 : Table de conversion Δ % - Γ

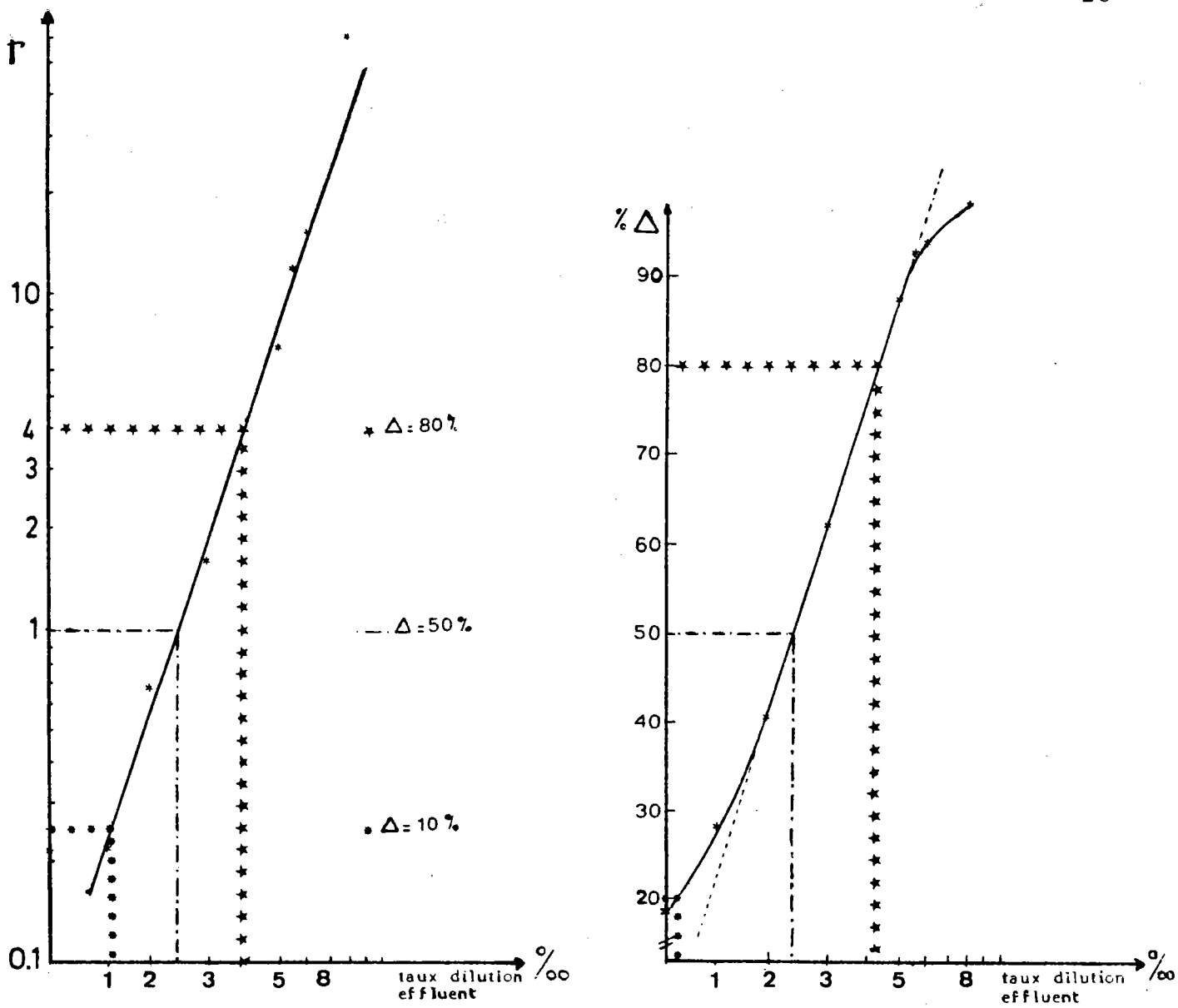


Figure 8 : Comparaison des graphes d'interprétation de la toxicité d'un effluent par l'intermédiaire des Δ % et des Γ correspondant aux valeurs ci-dessous

Taux de dilution de l'effluent	Δ %	Γ
1 ‰	18.56	0,22
1,5 ‰	28,04	0,23
2 ‰	40,52	0,68
3 ‰	62,02	1,63
5 ‰	87,52	7,01
5,5 ‰	92,64	12,59
6 ‰	94,03	15,76
8 ‰	98,42	62,29

IV - APPLICATION DU TEST MICROTOX A UN SCREENING DE TOXICITE SUR EFFLUENTS -

IV-1) Présentation du site (figure 9)

Le site est implanté à la périphérie d'une cité populeuse, et au milieu d'une zone à forte concentration industrielle.

Différents réseaux y drainent les eaux usées. Nous pouvons y distinguer :

a) un réseau industriel présentant deux branches bien distinctes :
   - l'une où les entreprises déversent les rejets jugés non toxiques (canal rejets industriels rivière = CRIR, déverses aR, bR et cR du site VIII ainsi que son effluent dR). Les eaux usées sont alors acheminées directement dans la rivière R .
   - l'autre où circulent les rejets dits toxiques (lignes Nord LNS et Sud LSS) qui sont dirigés vers la station d'épuration traitant plus spécifiquement les rejets industriels : STEP I .

b) un réseau ménager qui dirige les effluents domestiques (CRD 1, CRD 2, CRD 3) vers une seconde station d'épuration STEP D .

   Il faut noter que l'industrie II déverse aussi vers CRD 2, collecteur dit ménager.

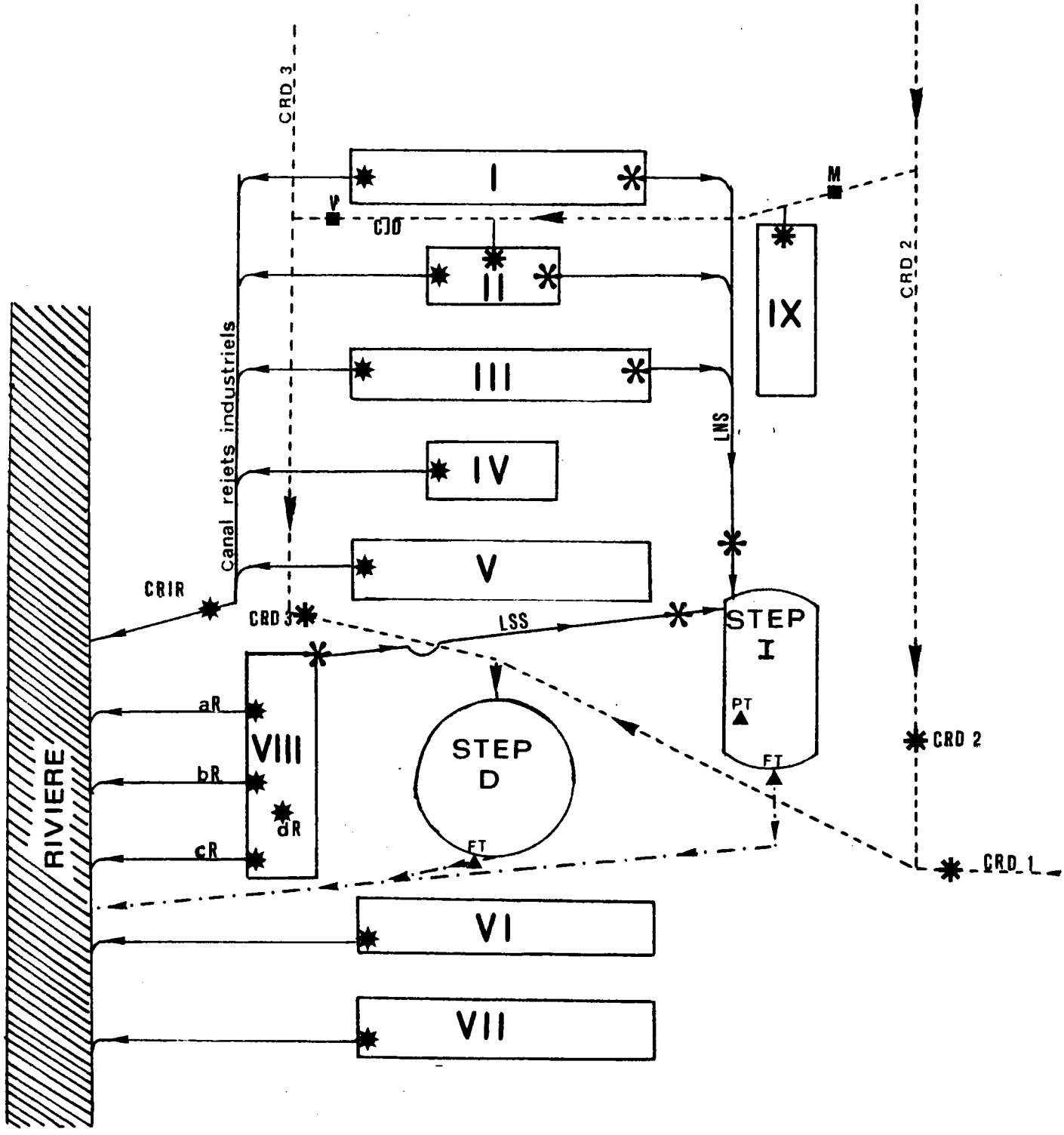
IV-2) Stratégie de prélèvements

IV-2-a) Points de prélèvement

1) Site industriel

Il est composé de neuf centres industriels dont la constitution des effluents peut être globalement définie comme suit :

Figure 9 : Schéma de situation des centres étudiés



✸ prélèvements rejets vers rivière

✱ prélèvements rejets vers STEP

✱ prélèvements rejets domestiques

■ un seul prélèvement

▲ prélèvements STEP

---- réseau domestique

—— réseau industriel

—·— effluent après traitement STEP

. Site n° 1	rejet Rivière rejet STEP	) phénols - quinone)
. Site n° 2	rejet R rejet S rejet D vers réseau domestique	) teintures organiques) colorants et produits) de synthèse)
. Site n° 3	rejet R rejet S	)) produits pharmaceutiques
. Site n° 4	rejet R	) PVC chlorure de polyvinyl (phtalates)
. Site n° 5	rejet R	) Elastomers-Cl^-- huiles - graisses
. Site n° 6	rejet R	) Elastomers-Cl^-- huiles - graisses
. Site n° 7	rejet R	) produits divers
. Site n° 8	déverse aR déverse bR déverse cR atelier dR rejet S	)) résidus de textiles) synthétiques))
. Site n° 9	rejet D	) produits pharmaceutiques

Nota : R = rejet déversé vers la rivière
S = rejet déversé vers la station d'épuration STEP I
D = rejet déversé dans le réseau domestique

2) Réseau domestique

Il est constitué de trois collecteurs :

. un collecteur principal CRD 2

. deux collecteurs annexes CRD 1 et CRD 3 reliés entre eux par un collecteur de jonction CJD

3) Stations d'épuration

Pour la station d'épuration traitant les effluents industriels (STEP I), quatre types de prélèvements ont été faits :

. avant l'entrée à la station, sur la ligne Nord (LNS) et sur la ligne Sud (LSS)

. pendant le traitement = à la sortie du stockeur (PT)

. à la sortie de la station après le traitement (FT)

Pour la seconde station traitant les effluents domestiques (STEP D) nous ne disposons que des prélèvements en entrée et en sortie de station.

4) Prélèvements divers

Les eaux du canal rejets industriels (CRIR) collectant les rejets R des sites I, II, III, IV, V, ont été testées juste avant leur déversement dans la rivière.

En ce qui concerne les eaux du canal de jonction (CJD), leur toxicité a été évaluée en amont (M) et en aval (V) des rejets des deux sites industriels II et IX.

VI-2-b) Chronologie des prélèvements

Les prélèvements ont été effectués sur une période de dix jours, soit du 4 au 14 juin 1982, à savoir :

. du samedi 4 juin.20H.au dimanche 5 juin.8H = 12 heures
. du mardi 7 juin. 8H.au mercredi 8 juin.8H = 24 heures
. du mercredi 8 juin. 8H.au jeudi 9 juin.8H = 24 heures
. du jeudi 9 juin. 8H.au vendredi 10 juin.8H = 24 heures
. du vendredi 10 juin. 8H.au samedi 11 juin.8H = 24 heures
. du samedi 11 juin. 8H.au dimanche 12 juin.8H = 24 heures
. du dimanche 12 juin. 8H.au lundi 13 juin.8H = 24 heures
. du lundi 13 juin. 8H.au mardi 14 juin.8H = 24 heures

L'échantillonnage prévu n'a pu être respecté pour les rejets de la ligne Nord de la station d'épuration STEP I qui n'a pas fonctionné jusqu'au 10 juin.

La station d'épuration STEP D a sa propre chronologie, un échantillon supplémentaire ayant été effectué du dimanche 5 au lundi 6 juin (8H - 8H), et inversement, aucun n'a été collecté pendant le week end du samedi 11 - 8H au lundi 13 juin 8H.

VI-2-c) Echantillonnage et conservation

. Les effluents destinés à l'analyse, d'une capacité de 100 ml chacun, correspondent à des prélèvements décantés de 24 heures (généralement 8H - 8H) asservis au débit, sauf en ce qui concerne ceux des dates suivantes :
  - du 4 au 5 juin - 20H.8H - intégration de 12 heures,
  - du 5 au 7 juin - 8H.8H - intégration de 48 heures.

. Afin d'étudier l'influence de la décantation préalable des effluents sur les résultats de toxicité, pour la journée du 10 au 11 juin, nous disposons d'échantillons décantés et non décantés.

. Les eaux ont été conservées en flacons en polyéthylène et stockées à - 20°C.

. Parallèlement, huit flacons (identiques à ceux utilisés pour la conservation des échantillons), contenant 100 ml d'eau distillée, ont été traités rigoureusement de la même manière que les "flacons effluents".

IV-3) Analyses

IV-3-a) Chronologie des essais

Trois mois ont été nécessaires pour réaliser cette étude qui a porté sur deux cent douze échantillons, la plupart d'entre eux ayant été testés trois fois avec des souches bactériennes différentes.

Nous détaillons ci-dessous le déroulement des analyses afin de cerner une éventuelle dérive de la toxicité avec le temps. L'étude a commencé dès réception des échantillons. Durant les deux premiers mois, deux tests ont été réalisés sur chacun des effluents à quelques jours d'intervalle (24,48 ou 72 heures).

La troisième campagne d'essais a été entreprise début septembre et ne concerne que les effluents pour lesquels une valeur de CE_{50} a été déterminée lors des deux premiers tests.

L'ordre des essais se résume ainsi :

1) fin juin - juillet 1982 = échantillons STEP I
2) juillet 1982 = échantillons STEP D, VIII
3) août 1982 = échantillons V, VI, I, III, II, IV, CRI R, IX, VII
4) fin août 1982 = flacons témoins
5) septembre 1982 = troisième essai

IV-3-b) Préparation des échantillons

Les échantillons sont décongelés à + 4°C, dix huit heures avant leur analyse et laissés à température ambiante pendant la durée des essais journaliers (six heures environ). Puis, ils sont mis de nouveau à congeler. Les échantillons sont bien homogénéisés avant tout prélèvement.

IV-3-c) Détermination du temps d'exposition

Avant d'entreprendre ce screening toxicologique, nous avons voulu confirmer qu'un temps de dix minutes d'incubation des bactéries avec l'effluent était suffisant.

A cet effet, plusieurs échantillons, pris au hasard, ont été analysés et les mesures de luminescence ont été faites après cinq, dix et quinze minutes de contact effluent - bactéries.

Les résultats montrent que si, après cinq minutes de contact, la toxicité maximale est pratiquement atteinte, celle-ci peut encore évoluer pour certains échantillons, ainsi qu'en témoignent les valeurs CE_{50} obtenues à dix minutes. Aucun changement significatif n'est enregistrable au delà de ce temps. (tableau n°1)
Ainsi nous avons choisi de limiter la durée des tests à dix minutes tout en réalisant, systématiquement, une lecture de luminescence après cinq minutes d'incubation.

IV-3-d) Contrôle de la toxicité des "flacons témoins"

Sur quatre flacons contenant de l'eau distillée et conservés dans les mêmes conditions que les effluents, aucune modification de la luminescence n'a été enregistrée. Ceci exclut toute participation des composants du matériau plastique, dans les résultats de toxicité des différents rejets.

IV-3-e) Expression des résultats

Les résultats de toxicité sont exprimés soit en Δ % pour les échantillons non ou moyennement toxiques et en CE_{50} pour les essais de toxicité positifs.

Dans ce dernier cas, les analyses étant réalisées au moins avec trois réactifs bactériens différents, la variation des résultats est exprimée par l'écart type S attaché à la valeur moyenne M des résultats et par le coefficient de variation, CV, déterminé comme suit :

$$CV\ \% = \frac{S}{M} \times 100$$

_°_°_°_°_°_

Prélèvement \ Temps de contact		CE_{50} en %		
		5 mn	10 mn	15 mn
STEP I				
Ligne Nord (LNS)	10-11	0,39	0,42	0,43
"	12-13	0,15	0,16	0,16
"	13-14	5,10	4,60	4,40
Ligne Sud (LSS)	8-9	4,0	3,10	2,90
Stockeur (PT)	7-8	19,5	19,5	19,5
STEP D				
	5-6	6,6	6,5	6,7
	13-14	35	24	25

Tableau n° 1 : Influence du temps de contact "bactérie-effluent" sur les valeurs de CE_{50} de différents prélèvements

IV-4) Résultats

Nous commenterons les résultats à partir de la toxicité enregistrée après dix minutes de contact bactéries - effluent.
Les résultats au temps cinq minutes, sont regroupés en annexe 2.

IV-4-a) Résultats de toxicité par site

1) Sites industriels

* Centres I et III

Ces centres rejettent deux types d'effluents :
- ceux estimés toxiques et destinés à la station d'épuration STEP I
- ceux jugés non nocifs, envoyés vers les eaux de surface

Cette distinction semble justifiée puisque nous la retrouvons lors des essais de toxicité : si une valeur de CE_{50} a pu être déterminée pour les effluents dirigés vers la station d'épuration, la toxicité beaucoup plus faible des rejets à la rivière n'a pu être exprimée qu'à l'aide des valeurs de Δ %, l'inhibition de luminescence produite par les eaux (diluées à 45 %) excédant rarement 50 %.

. Rejets vers le cours d'eau - R - (tableau n°2)

Pour les rejets I R, l'inhibition de luminescence induite, se situe entre 19 % (prélèvement du 7 au 8) et 51 % (du 12 au 13) sauf pour le prélèvement du 4 au 5 pour lequel, une baisse de luminescence de 66 % est enregistrée.

La diminution moyenne de luminescence se situe pour le centre I à 35 %.

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		Δ% APRÈS 10 MN (MOYENNE DE 2 ESSAIS) REJETS RIVIÈRE	
DATE	HEURE	CENTRE I	CENTRE III
4-5	20 H - 8 H	66,5	72
7-8	8 H - 8 H	19	40
8-9	"	32	10
9-10	"	26	- 10
10-11	"	34,5	9,5
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	36,5	28
11-12	"	30	10
12-13	"	51	4
13-14	"	22	11

TABLEAU N° 2 : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE
CENTRES I ET III

Δ% ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 %

Prélèvement Juin 1982		CE_{50} après 10 mn rejet à la STEP I					
		Centre I			Centre III		
Date	Heure	N*	M ± S (%)	CV %	N*	M ± S (%)	CV %
4-5							
7-8			/			/	
8-9							
9-10							
10-11	16 H - 8 H	3	0,150 ± 0,021	14	3	2,24 ± 1,02	45
10-11	16 H - 8 H	3	0,125 ± 0,012	9	3	1,90 ± 0,91	48
EAU NON DÉCANTÉE							
11-12	8 H - 8 H	4	0,085 ± 0,014	16	3	1,00 ± 0,28	28
12-13	8 H - 8 H	5	0,187 ± 0,039	21			
13-14	"	3	1,54 ± 0,18	12			

Tableau n° 3 : Toxicité des eaux de rejet à la station d'épuration STEP I des Centres I et III

$CE_{50-10\ mn}$ ou taux de dilution des eaux entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes

n = nombre de réactifs bactériens utilisés

Les rejets III R semblent moins toxiques que les précédents ainsi qu'en témoignent les valeurs de Δ % lègèrement plus faibles (Δ moyen de 23 %), exceptés pour les prélèvements du 4 au 5 (Δ = 72 %) et du 7 au 8 (Δ = 40 %). Quant à celui effectué du 9 au 10, il ne présente aucune toxicité (Δ = - 10 %).

Pour ces deux sites, nous notons :

- un maximum de toxicité ($\Delta > 50$ %) pour la nuit du 4 au 5 juin
- aucune différence significative entre la période du 4 au 10 juin, au cours de laquelle les rejets à la station d'épuration n'ont pu être effectués, et celle du 10 au 14 juin.

. Rejets S vers la station d'épuration (tableau n°3)

Les rejets dirigés vers la station STEP I sont par contre beaucoup plus toxiques. Les valeurs des CE_{50} se situent entre 0,08 et 1,5 % pour les eaux du secteur I et entre 1 et 2,24 % pour celles du secteur III. Ces dernières font preuve d'une toxicité dix fois plus faible que les précédentes (IS)

Dans les deux cas, la pollution est plus importante au cours de la journée du 11 - 12 juin.

* Centre II (tableau n°4)

L'examen des résultats de toxicité de ce site, II R ou II S, amène à la même constatation que précédemment, à savoir que les eaux destinées à l'épuration s'avèrent dix à quatre vingts fois plus toxiques que celles rejetées à la rivière.

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		CE 50 APRÈS 10 MN CENTRE II					
DATE	HEURE	REJET RIVIÈRE N	M ± S (%)	CV %	REJET STEP I N	M ± S (%)	CV %
4-5	20 H - 8 H	3	3,30 ± 0,61	18			
5-7	8 H - 8 H	3	36,33 ± 4,64	13			
7-8	"	3	3,05 ± 0,18	6			
* 8-9	"	3	2,40 ± 0,63	26			
9-10	"	3	3,16 ± 0,51	16			
10-11	"	3	7,10 ± 0,74	10	4	0,70 ± 0,22	31
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	3	6,26 ± 0,65	10	4	0,35 ± 0,11	31
11-12	"	3	15,75 ± 5,38	34	4	0,20 ± 0,03	15
12-13	"	2	INDÉTERMINÉE EAU PEU TOXIQUE (△%)**				
13-14	"	3	4,24 ± 0,34	8			

TABLEAU N° 4 : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE ET À LA STATION D'ÉPURATION STEP I DU CENTRE II

$CE_{50-10\ mn}$ ou taux de dilution de l'effluent qui entraîne 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 10 minutes de contact

* rejet D du 8 au 9/6 - 8 h - 8 h = $CE_{50-10\ mn}$ = 49 % ± 12 (n = 2)

** △% = - 9 %

. Rejets rivière - II R -

A l'exception du prélèvement du 12 - 13 juin, pour lequel aucune nocivité n'a pu être mise en évidence (Δ = - 9 %) les autres rejets présentent une toxicité notable. Les valeurs de CE_{50} témoignent d'une pollution plus élevée du 4 au 10 juin (à l'exception du 5 au 7 juin) que du 10 au 14 juin. Les CE_{50} moyennes sont voisines de 3 % pour la première période alors qu'elles sont de 9 % pour la seconde.

. Rejets à la STEP I (S)

La nocivité de ces effluents est de dix à cent fois plus importante que celle des eaux rejetées à la rivière. Elle semble plus élevée les 11 - 12 juin (CE_{50} = 0,20 %)

. Rejets vers la STEP D (D)

Afin de juger de la toxicité des rejets du site II, vers la station d'épuration D, un prélèvement de ces effluents a été effectué du 8 au 9 juin.

La valeur de la CE_{50} (49 %) montre que la toxicité enregistrée est de cent fois inférieure à celle des rejets de ce même centre vers la STEP I (CE_{50} = 0,45 %).

* Centre IV (tableau n° 5)

Exceptées deux valeurs positives (pour les 7 - 8 et 11 - 12) tous les résultats mettent en évidence des valeurs négatives de Δ %, avec pour certains rejets, des valeurs absolues élevées (- 35 % pour le 10 - 11 et - 73 % pour le 12 - 13).

Il est difficile d'interpréter les résultats de ces deux derniers prélèvements présentant des valeurs négatives

importantes de Δ % et de savoir si elles correspondent à une charge importante de l'effluent en dérivés exaltant la luminescence bactérienne. Aucune toxicité des effluents vis à vis des bactéries n'a été mise en évidence.

* Centre V (tableau n° 6)

Dans leur ensemble, ces rejets sont peu toxiques, puisque la plus forte diminution de luminescence n'excède pas 28 % (7 au 8 juin).

Un tiers des échantillons induit une élévation de la luminescence (8 - 9, 11 - 12, 10 - 11).

Il faut noter la forte valeur absolue du prélèvement du 8 - 9 (Δ = - 45,5 %, valeur moyenne de deux essais bactériens Δ = - 44 % et - 47 %).

* Centre VI (tableau n° 6)

Les résultats sont semblables aux précédents et il faut relever le parallélisme entre ces deux centres pour :

- le prélèvement du 7 - 8, également plus toxique : la valeur élevée de la diminution de luminescence bactérienne (Δ = 96 %) permet de déterminer une valeur de CE_{50} de cet effluent (35,4 %).
- le prélèvement du 8 - 9, qui exalte aussi de façon importante l'activité luminescente (Δ = 49 %).

* Centre VII (tableau n° 7)

Si la plupart des prélèvements provoquent une augmentation de la bioluminescence, une faible toxicité est néanmoins enregistrée pour la période du 11 - 12 (Δ = 20 %).

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 10 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	- 32
7-8	8 H - 8 H	0
8-9	"	- 18
9-10	"	- 21
10-11	"	- 8
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	- 35
11-12	"	+ 1,5
12-13	"	- 73
13-14	"	- 20

TABLEAU N° 5 : TOXICITÉ DES EAUX DU CENTRE IV

△% ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

Prélèvement Juin 1982		△ % après 10 mn			
		Centre V		Centre VI	
Date	Heure	N	M ± S	N	M ± S
4-5	20 h - 8 h	4	4,6 ± 1,8	2	- 7,5
7-8	8 h - 8 h	3	28 ± 12	3	96 ± 2 *
8-9	"	2	- 45,5	2	- 49
9-10	"	2	0		
10-11	"	2	- 1	3	- 11,5 ± 7
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	2	11	3	- 44 ± 3
11-12	"	2	- 11	2	- 7
12-13	"	2	6	2	- 19
13-14	"	2	3	2	- 16

Tableau n° 6 : Toxicité des eaux de rejet rivière des Centres V et VI

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de10 minutes avec les eaux diluées à 45 %

* $CE_{50-10\ mn}$ = 35,4% ± 9,3 %

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		Δ % APRÈS 10 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	2,5
7-8	8 H - 8 H	10,5
8-9	"	- 16
9-10	"	- 5
10-11	"	- 26
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	- 22
11-12	"	20
12-13	"	- 13
13-14	"	- 7

TABLEAU N° 7 : TOXICITÉ DES EAUX DU CENTRE VII

Δ% ou pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec des eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

* Centre VIII

Cinq types de prélèvements ont été effectués au niveau du site VIII, pendant toute la durée de l'étude :

- un prélèvement sur les eaux rejetées à la rivière pour chacune des trois déverses : . déverse aR
  . déverse bR
  . déverse cR

  et un prélèvement à l'intérieur d'un atelier de production dR.

  Pour ces quatres types d'effluents, aucune inhibition de luminescence n'a pu être enregistrée avec ces eaux, ainsi qu'en témoignent les valeurs le plus souvent négatives des Δ % (tableau 8 et 9).

  Les résultats du 8 - 9 (Δ = - 55 %) et du 13 - 14 (Δ = 20 %) pour la déverse aR sont difficilement interprétables sachant que nous ne savons pas l'origine de l'exaltation de luminescence. Dans ces conditions, il est délicat de considérer le prélèvement du 13 - 14, comme plus toxique.

- un prélèvement sur les rejets dirigés vers la station d'épuration STEP I (tableau n° 10).

  Les valeurs des CE_{50} de ces effluents, se situant entre 1 et 5 % témoignent d'une toxicité plus élevée que les eaux précédentes rejetées à la rivière. La toxicité est accentuée les 8 - 9, 10 - 11 et 7 - 8.(CE_{50} voisine de 1, 5 %)

* Centre IX (tableau n° 11)

Les valeurs de Δ % négatives, obtenues avec la plupart des essais traduisent la faible toxicité de ces effluents, à l'exception de ceux des 9 - 10 et 10 - 11 pour lesquels Δ présente respectivement des valeurs de 11,5 et 25 %.

Prélèvement Juin 1982		△ % après 10 mn (moyenne de 2 essais)		
Date	Heure	Déverse A	Déverse B	Déverse C
4-5	20 h - 8 h	* 7	* - 8,5	*** - 3,6 ± 3,0
5-7	8 h - 8 h	- 4	- 3	* - 10
7-8	"	* - 5	- 7	- 16
8-9	"	*** - 55 ± 11	- 18,5	0
9-10	"	* - 11	* - 5,5	- 12,5
10-11	"	* - 13	- 12,5	- 8
10-11 eau non décantée	"	* - 11	- 21,5	- 7
11-12	"	* - 6	- 9,5	- 8,5
12-13	"	- 2	2	- 16
13-14	"	20	* 8	- 9

Tableau n° 8 : Toxicité des eaux de rejet rivière du Centre VIII

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 %

* n = 1

*** n = 3

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 10 MN REJET D RIVIÈRE	
DATE	HEURE	N	M
4-5	20 H - 8 H	2	- 18
5-7	8 H - 8 H	2	- 1
7-8	"	2	- 3
8-9	"	2	- 6,5
9-10	"	2	- 4
10-11	"	1	- 11
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	1	- 2
11-12	"	2	- 9,5
12-13	"	1	- 9

TABLEAU N° 9 : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE DE L'ATELIER D DU CENTRE VIII

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 %

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		CE_{50} - 10MN		
DATE	HEURE	N	M ± S (EN %)	CV (EN %)
4-5	20 H - 8 H	5	4,71 ± 1,25	26
5-7	8 H - 8 H	4	2,58 ± 0,63	24
7-8	"	4	1,66 ± 0,59	35
8-9	"	4	1,37 ± 0,19	14
9-10	"	4	3,07 ± 0,55	18
10-11	"	4	1,4 ± 0,30	21
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	4	1,49 ± 0,22	15
11-12	"	4	4,27 ± 2,12	49
12-13	"	4	3,42 ± 1,35	39
13-14	"	4	3,07 ± 0,79	25

TABLEAU N° 10 : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET À LA STATION D'ÉPURATION DU SITE VIII

$CE_{50-10\ mn}$ ou taux de dilution de l'effluent entraînant 50 % de diminution de luminescence bactérienne après 10 minutes de contact

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 10 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	- 10,5
7-8	8 H - 8 H	- 20
8-9	"	- 9
9 - 10	"	11,5
10-11	"	25
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	30
11-12	"	- 20
12-13	"	- 5
13-14	"	- 14

TABLEAU N°11 : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET À LA STATION STEP D DU CENTRE IX

△ % ou pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

* Canal Rejets Industriels - CRIR - (tableau n° 12)

Ce canal draine les effluents des centres industriels I, II, III, IV, V et les déverse dans la rivière.

Les échantillons prélevés en aval de ces cinq sites, durant la période du 4 au 14 juin, sont relativement peu toxiques.

Les valeurs de Δ s'échelonnent entre 15 % (pour le 12 - 13) et 47 % (pour le 4 - 5), avec une moyenne de 31,5 % pour les dix essais.

Les prélèvements du 7 - 8, 12 - 13 et 13 - 14 semblent les moins toxiques ($\Delta < 20$ %).

Il est intéressant de souligner :

- d'une part, que des cinq types de rejets composant le CRIR, ce sont les effluents des sites II, I et III qui présentent la toxicité la plus forte.
- et d'autre part, que la toxicité des eaux du CRIR, évolue proportionnellement à celle de ces trois sites et en particulier du centre II ;
  le maximum de toxicité se situant les :
  4 - 5, 7 - 8, 8 - 9 et 9 - 10 pour le centre II
  4 - 5 pour les centres I et III
  4 - 5 et 9 - 10 pour le CRIR,

  et inversement la toxicité la plus faible étant enregistrée les :
  12 - 13 et 5 - 7 pour le centre II
  7 - 8 et 12 - 14 pour le centre I
  9 - 10 et 12 - 13 pour le centre III
  12 - 13, 7 - 8 et 13 - 14 pour le CRIR

2) Réseau ménager (tableau n° 13)

* Collecteurs CRD 2 et CRD 3

Les effluents de ces deux collecteurs manifestent une

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982 DATE	HEURE	△ % APRÈS 10 MN N = 3 M ± S	CV (EN %)
4	9 H 30 - 14 H	36 ± 5	14
4-5	20 H - 8 H	47 ± 7	15
7-8	8 H - 8 H	18 ± 19	105
8-9	"	36 ± 14	39
9-10	"	43 ± 9	21
10-11	"	27 ± 19	70
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	43 ± 4	9
11-12	"	31 ± 11	35
12-13	"	15 ± 7	47
13-14	"	19 ± 9	47

TABLEAU N° 12: TOXICITÉ DES EAUX DU CANAL REJETS INDUSTRIELS (C R I R)

△% ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec les eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 3)

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982	△ % APRÈS 10 MINUTES (N = 2) STEP D			
DATE HEURE	COLLECTEUR CRD 1 M CV%	COLLECTEUR CRD 2 M CV%	COLLECTEUR CRD 3 M CV%	SORTIE STATION M
4-5 20 H - 8 H	87	* 39 ± 7 18	45	5
5-6 8 H - 8 H	74	32	34	30,5
7-8 "	* 77 ± 20 26	47,5	50	23,5
8-9 "	70	41	49	14,5
9-10 "	69,5	29	41	8
10-11 "	65,5	48	39	4
10-11 " EAU NON DÉCANTÉE	57,5	42	41	15
13-14 "	60	36	28	12
8-9 "	SECTEUR V SECTEUR M	△ % - 10 MN = 46 % △ % - 10 MN = 53,5 %		

TABLEAU N° 13 : TOXICITÉ DES EFFLUENTS TRAITÉS À LA STATION D'ÉPURATION STEP D

△% 10 mn ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après 10 minutes de contact avec les effluents dilués à 45 %

* n = 3

toxicité relativement faible mais non négligeable puisque les pourcentages de diminution de luminescence se situent entre 28 et 50 % et peuvent être évalués à 45 % en moyenne dans les deux cas.

* Collecteur principal CRD 1

Les rejets de ce collecteur sont par contre plus toxiques que précédemment, ainsi qu'en témoignent les valeurs de Δ nettement plus élevées = 57 à 87 % et les CE_{50} correspondantes de l'ordre de 5 à 25 % (Tableau n° 24).

Ces chiffres correspondent aux valeurs moyennes des résultats obtenus à l'issue des deux premières séries d'essais effectuées en juillet 1982.

Pour tout le réseau ménager, nous obtenons onze valeurs de Δ supérieures à 50 % sur 23 essais (48 % des effluents).

3) Stations d'épuration

* STEP I

Les rejets industriels traités dans cette station ont deux origines :

- les centres I, II, III dont les effluents sont collectés par la ligne Nord (LNS)
- le centre VIII dont les rejets sont drainés par la ligne Sud (LSS)

. Les eaux de la ligne Nord - LNS - traitées à la STEP I

dont le fonctionnement est resté limité à la période du 10 au 14 juin, sont particulièrement toxiques, compte tenu des valeurs de CE_{50} très faibles = 0,080 % à 2,415 % (tableau n° 14).

Ces résultats semblent logiques dans la mesure où la toxicité des effluents collectés est elle-même élevée. Les CE_{50} des rejets à la station pour les centres I et II sont d'ailleurs du même ordre de grandeur que celles trouvées à l'arrivée à la station. Si une pointe de pollution sur cette ligne Nord peut être enregistrée le 12 - 13 juin, il est toutefois difficile d'établir un parallèle avec la toxicité spécifique de chacun des rejets qui la compose, les prélèvements n'ayant été réalisés à cette date que pour le centre I.

. Les eaux de la ligne Sud - LSS - (tableau n° 14)

Elles présentent une toxicité moindre que celles de la ligne Nord = les valeurs de CE_{50} variant entre 1,4 et 4,2 %.

Comme cette ligne collecte uniquement les rejets toxiques du centre VIII, les mêmes valeurs de toxicité devraient être trouvées entre la sortie S du centre VIII et l'arrivée LSS à la station. Les toxicités sont en effet quasiment identiques pour les journées du 5 - 7 et 10 - 11, et voisines du 7 au 10. Par contre, pour la période du 11 au 14 juin et la nuit du 4 au 5, elles sont significativement deux fois moins élevées pour les eaux arrivant à la station d'épuration par la ligne Sud que celles de la déverse VIII S (comparaison des tableaux n° 10 et 14).

. Au niveau de la station STEP I

Deux niveaux d'échantillonnage ont été choisis :
- à la sortie stockeur - PT -
- à la sortie de la station - FT -

En sortie stockeur, l'efficacité de l'épuration se traduit par une nette diminution des valeurs de toxicité (tableau n° 15).

Prélèvement Juin 1982		CE_{50} après 10 mn Rejets STEP I					
		Ligne Nord (LNS)			Ligne Sud (LSS)		
Date	Heure	N	M ± S (%)	CV (%)	N	M ± S (%)	CV (%)
4-5	20H - 8H				3	2,13 ± 0,32	15
5-7	8H - 8H				3	2,58 ± 1,40	54
7-8	"				3	2,57 ± 0,830	32
8-9	"				3	1,56 ± 0,06	4
9-10	"				4	4,19 ± 1,09	26
10-11	20H - 8 H L.N. 8H - 8H L.S.	3	0,315 ± 0,070	22	3	1,415 ± 0,36	25
10-11 Eau non décantée	20H - 8H L.N. 8H - 8H L.S.	3	0,325 ± 0,020	6	3	1,95 ± 0,28	14
11-12	8H - 8H	3	0,275 ± 0,025	9	3	2,30 ± 0,41	18
12-13	"	4	0,080 ± 0,015	19	3	1,70 ± 1,27	75
13-14	"	3	2,415 ± 0,830	34	3	1,63 ± 0,22	13

Tableau n° 14 : Toxicité des eaux des lignes Nord et Sud conduisant à la station d'épuration STEP I

$CE_{50-10\ mn}$ ou taux de dilution des effluents entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 10 minutes de contact

Prélèvement Juin 1982		CE_{50} après 10 mn STEP I				
		Sortie stockeur (PT)			Sortie station (FT)	
Date	Heure	N	M ± S (%)	CV (%)	N	M (%)
4-5	20H - 8H	3	9,3 ± 1,60	17		**
5-7	8H - 8H	3	12,5 ± 3	24		**
7-8	"	3	11,25 ± 1,4	12		**
8-9	"	3	11,36 ± 3,14	28		**
9-10	"	3	10,38 ± 1,24	12		**
10-11	"	3	7,20 ± 1,76	24		**
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	3	7,61 ± 1,09	14		**
11-12	"	3	4,73 ± 0,90	19		**
12-13	"	4	4,65 ± 0,70	15	2	16 %
13-14	"	3	4,70 ± 1,06	23	2	27 %

Tableau n° 15 : Toxicité des eaux traitées à la station d'épuration STEP I

$CE_{50-10\ mn}$ ou taux de dilution des eaux entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 10 minutes de contact

** CE_{50} indéterminée car eau peu toxique (voir tableau n° 16 = △ à 45 %)

Les valeurs des CE_{50} des effluents à ce niveau, sont comprises entre 4,6 et 12,5 % et reflètent une toxicité diminuée d'un facteur 20 par rapport à la toxicité des eaux provenant de ligne Nord (période du 10 au 14) et d'un facteur variant de 2 à 7 pour la ligne Sud.

L'épuration biologique réalisée ensuite, accentue la détoxication de ces effluents prétraités, si bien qu'en sortie station il n'est plus possible de déterminer de CE_{50}. L'inhibition de luminescence bactérienne induite par les effluents traités se situe entre 17 et 45 % à l'exception des eaux du 12 - 13 et 13 - 14 qui atteignent 65 et 62 %. (tableau n° 16).

Il faut remarquer que ces deux valeurs de toxicité élevée correspondent à une toxicité plus forte des eaux d'arrivée des lignes Nord et Sud. (tableau n° 14)

Si les valeurs de Δ enregistrées au point FT sont comparées à celles du point PT, nous pouvons évaluer un facteur d'épuration qui varierait de 1,5 à 4,7 (une moyenne de 2,8). Cela signifie que la toxicité des eaux à la sortie station sont 2,8 fois moins toxiques que les eaux à la sortie du décanteur.
Ce même type de calcul peut être fait à partir des valeurs de CE_{50} pour les eaux prélevées les 12 - 13 et 13 - 14, en entrée station, sortie stockeur et sortie station.

Les résulats sont semblables aux précédents = les eaux au niveau stockeur sont 2,4 à 5 fois moins toxiques que celles d'entrée en épuration. En fin de traitement, les effluents ont une toxicité 3,5 fois inférieure à ceux après le prétraitement. Nous pouvons donc évaluer un taux d'épuration général de 8,5 à 18,5 pour des rejets dits toxiques.

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 10MN STEP I	
DATE	HEURE	SORTIE STOCKEUR (N=3) M	SORTIE STATION M
4-5	20 H - 8 H	95	36
5-7	8 H - 8 H	80,5	17
7-8	"	90	27
8-9	"	94	23,5
9-10	"	92	37
10-11	"	98,5	45
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	97,5	30
11-12	"	100	38
12-13	"	99	65
13-14	"	100	62

TABLEAU N° 16 : TOXICITÉ DES EAUX TRAITÉES À LA STATION D'ÉPURATION STEP I

△% 10 mn ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après 10 minutes de contact avec les effluents dilués à 45 %

* STEP D (tableau n° 13)

A la différence de la STEP I, cette station traite essentiellement des effluents domestiques et quelques effluents provenant de centres industriels (déverses D des sites II et IX).

Trois principaux collecteurs alimentent cette station : CRD 1, CRD 2 et CRD 3.

Aucune relation quantitative ne semble pouvoir être faite entre la toxicité des différents collecteurs et la toxicité résiduelle après épuration, sur une même journée.

Nous pouvons conclure simplement que l'épuration est efficace car en comparant la toxicité la plus élevée des collecteurs (CRD 1) et la toxicité résiduelle en sortie station, nous enregistrons un facteur d'épuration voisin de cinq sauf en ce qui concerne deux essais pour lequel ce taux est proche de dix sept (pour les 4 - 5 et 10 - 11).

Pour les prélèvements ponctuels M et V (du 9 - 10), sur le canal de jonction (CJD), une toxicité proche des 50 % d'inhibition de la bioluminescence est détectée.

Il est à noter que les trois points (M,V, CRD 3) situés sur cette branche, présentent une toxicité semblable (Δ compris entre 46 et 53,5 %) et que les déverses intermédiaires D indiquent une toxicité de même ordre pour le centre II (Δ = 49 %) et négative pour le centre IX (Δ = - 9 %).

IV-4-b) Comparaison de la toxicité des effluents d'un même site à dilution équivalente

Devant les difficultés de se prononcer sur la nature réellement plus toxique des substances contenues dans les effluents dirigés vers les stations d'épuration que dans les rejets déversés à la rivière et connaissant le débit d'émission de ces rejets, nous

avons comparé pour un même site la toxicité des deux types d'effluents qui seraient émis avec un flux identique c'est à dire à dilution équivalente.

Ceci permettra le cas échéant, de savoir si la toxicité plus élevée enregistrée sur les circuits dirigés vers la STEP ne résulte pas d'un effet de concentration des rejets.

Cette étude a porté sur les trois sites suivants : I, II et III.

Les différents débits figurent dans le tableau n° 17.

Les rejets vers la station d'épuration ont été dilués d'un facteur égal au rapport de débit existant entre les deux types d'effluents.

Les analyses des rejets R et S, amenés au même taux de dilution ont été effectuées à l'aide du même réactif bactérien. Dans ces conditions, en comparant les valeurs de diminution de luminescence, les conclusions sont les suivantes :

1) Pour le centre I

Les eaux S allant vers la station d'épuration STEP I demeurent au moins deux fois plus toxiques, sauf pour le prélèvement du 13 au 14, où le rejet R paraîtrait plus nocif que le rejet STEP. (tableau n° 18)

Nous pouvons alors déterminer le rapport réel de toxicité des eaux rejetées à la STEP I par rapport aux eaux déversées à la rivière par la formule suivante :

$$\text{rapport réel} = \frac{\text{toxicité des eaux } S^*}{\text{toxicité des eaux } R^*} \times \text{rapport du flux } \frac{R}{S}$$

* à dilution égale

La toxicité réelle des effluents dirigés vers la STEP I est donc 250 à 500 fois plus élevée que celle des eaux rejetées à la rivière pour la période du 10 au 13. (tableau n°19)

Site / Date	Centre I		Centre III		Centre II	
	rivière	Step	rivière	Step	rivière	Step
10-11	57 435	309	65 718	622	9 148	596
11-12	52 125	427	48 388	532	6 485	632
12-13	32 460	250	-	-	-	-
13-14	31 170	167	-	-	-	-

Tableau n° 17 : Débit en m3 par jour des rejets rivière ou à la station d'épuration I, des sites I, II et III

Site / Date du prélèvement	Centre I			Centre III		
	Δ % 10 mn à dilution égale des rejets		Tox. rejet Step / Tox. rej. rivière	Δ % 10 mn à dilution égale des rejets		Tox. rejet Step / Tox. rej. rivière
	rivière	STEP I		rivière	STEP I	
10-11	34,5	90	2,6	45,6	14	0,3
10-11 eau non décantée	33	78	2,4	54	11,5	0,2
11-12	36	99,5	2,7	29,5	31	1,0
12-13	48	97,6	2,0			
13-14	35	0,5	0,014			

Tableau n° 18 : Comparaison de la toxicité des rejets rivière et STEP des Centres I et III : rejets testés à dilution équivalente, compte-tenu du rapport de flux respectif des effluents rivière et STEP I

	CENTRE I		
	$R_1 = \frac{\text{FLUX RIVIÈRE}}{\text{FLUX STEP}}$	$\frac{\text{TOX. EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE À DILUTION ÉGALE}} = K'_1$	$\frac{\text{TOX. RÉELLE EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE}}$ = RAPPORT RÉEL $R_1 \times K'_1$
10-11	185	2,6	481
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	185	2,4	444
11-12	122	2,7	330
12-13	130	2,03	264
13-14	187	0,014	2,6

TABLEAU N° 19 : TOXICITÉ COMPARÉE DES REJETS RIVIÈRE ET STEP I DU CENTRE I

(d'après Δ% évalué après 10 mn)

Site / Date du prélèvement	Centre II — Δ% - 10 mn à dilution égale des rejets		Tox.rejet Step / Tox.rej.rivière
	Rivière	STEP I	
10-11	32	37,5	1,17
10-11 eau non décantée	37,6	60	1,59
11-12	36	100	> 2,77

Tableau n° 20 : Comparaison de la toxicité des rejets rivière et STEP du Centre II : rejets testés à dilution équivalente compte-tenu du apport de flux respectif des effluents rivière et station d'épuration STEP I

Date du prélèvement	$R = \frac{\text{flux ef.rivière}}{\text{flux ef.Step}}$	CE_{50}-10 mn rivière	CE_{50}-10 mn Step	CE_{50}-Step corrigée = $CE_{50} \times R$	$\frac{CE_{50}\ \text{rivière}}{CE_{50}\ \text{Step cor.}}$
10-11	15,35	14,2	1,4	21,5	0,66
10-11 eau non décantée	"	12,53	0,70	10,7	1,17
11-12	10,26	31,5	0,41	4,2	7,5

Tableau n° 21 : Comparaison, à l'aide des CE_{50}, de la toxicité des rejets rivière et station d'épuration I du Centre II

	CENTRE III		
	$R_2 = \frac{\text{FLUX RIVIÈRE}}{\text{FLUX STEP}}$	$\frac{\text{TOX. EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE}} = K_2$ À DILUTION ÉGALE	$\frac{\text{TOX. RÉELLE EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE}}$ $R_2 \times K_2$
10-11	105	0,3	31,5
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	105	0,2	21
11-12	91	1,0	91

TABLEAU N° 22 : TOXICITÉ COMPARÉE DES REJETS RIVIÈRE ET STEP DU CENTRE III

(d'après Δ% évalué après 10 mn)

2) Pour le centre II

La toxicité des rejets R et S est équivalente pour la période du 10 - 11. Par contre pour le 11 - 12, l'inhibition de luminescence de 100 % obtenue pour les eaux diluées de la STEP I fait état d'une toxicité encore nettement supérieure par rapport à celle des eaux dirigées vers la rivière. (tableau n° 20)

Les rapports de toxicité établis par ce type d'expérimentation sont du même ordre que ceux déterminés à partir des CE_{50} de ce site.(tableau n° 21)

3) Pour le centre III

Si la toxicité est, à dilution égale, quasiment identique pour le 11 - 12, inversement, celle des rejets R au fleuve se montre trois à cinq fois plus importante que celle des rejets S de la STEP I pour le 10 - 11 (tableau n° 18).

Le rapport réel de toxicité des eaux brutes dirigées vers la station STEP I à celui des effluents rejetés vers la rivière avoisine la valeur 32 pour le 10 - 11, et la valeur 91 pour le 11 - 12. (tableau n° 22)

IV-4-c) Comparaison de la toxicité des effluents d'un même site à Δ % identique

Afin de pouvoir comparer avec précision les résultats de toxicité d'un même site, ces derniers doivent être exprimés de la même manière :

. soit par la CE_{50} quand le taux de toxicité le permet,

. soit par les Δ % pour les effluents de faible toxicité.

Mais pour cette comparaison de toxicité il nous est possible de confronter, pour chaque effluent d'un même site, le taux de dilution entraînant une même diminution de luminescence bactérienne, c'est à dire pour lequel la valeur de Δ % enregistrée est identique.

Cette étude a porté sur les rejets R et S des centres I, III et sur les effluents de la station STEP I. (tableau n° 23)

Dans ces conditions (Δ % identique), il existe un rapport de 600 entre la toxicité des rejets à la rivière et celle des eaux dirigées vers la STEP I, pour le site I, de 230 pour les eaux du site III (ce dernier résultat étant entaché d'une incertitude non négligeable compte tenu de la faible valeur de Δ %).

Pour les prélèvements au niveau de la STEP I, pour la journée du 11 - 12, nous retrouvons, par ce procédé de comparaison des dilutions le même rapport de toxicité que celui obtenu à partir des valeurs de CE_{50} correspondantes.

Ainsi nous obtenons :

- un rapport de toxicité d'une valeur de 6,4 en comparant les taux de dilution à Δ % identique contre 8,36 pour celui obtenu à partir des valeurs des CE_{50}, entre les eaux de la ligne Sud et celles de la ligne Nord.

- un rapport de toxicité de 2 dans les deux cas de comparaison (Δ % identique et CE_{50}) entre les effluents en sortie stockeur (FT) de la STEP I et les eaux de l'arrivée Sud (LSS) de cette même station.

IV-4-d) Comparaison de la toxicité d'un même échantillon décanté ou non décanté

Les échantillons nous sont parvenus décantés, sauf pour la période du 10 au 11 juin, pour laquelle nous disposons d'échantillons décantés et non décantés.

Pour les échantillons décantés des centres I, II, III, tant pour les rejets R que pour les rejets S, nous constatons une légère diminution de la toxicité (14 %) par rapport à celle des échantillons non décantés.

DATE DU PRELEVEMENT / EFFLUENT	11 - 12	
	△ %	TAUX DE DILUTION DES EAUX DE REJET
SITE I	30 %	STEP 0,076 % RIVIERE 45 %
SITE III	10 %	STEP 0,196 % RIVIERE 45 %

Tableau 23a : Taux de dilution comparés des rejets des sites I et III, présentant une toxicité identique.

DATE DU PRE-LEVEMENT / EFFLUENT	8 - 9		11 - 12	
	△ %	TAUX DE DILUTION DES EAUX DE REJET	△ %	TAUX DE DILUTION DES EAUX DE REJET
STEP I	23,5 %	Ligne NORD (LNS) /	37,8 %	Ligne NORD (LNS) 0,238 %
		Ligne SUD (LSS) 1 %		Ligne SUD (LSS) 1,525 %
		Sortie Stockeur (PT) 4,7 %		Sortie Stockeur (PT) 3 %
		Sortie Station (FT) 45 %		Sortie Station (FT) 45 %

Tableau 23b : Taux de dilution comparés des effluents de la station STEP I présentant une toxicité identique.

TABLEAU N° 23 : COMPARAISON DE LA TOXICITÉ DES EFFLUENTS D'UN MÊME SITE À △ % IDENTIQUE

/ = non prélevé

Pour le centre VIII, la décantation ne semble provoquer aucune modification de la valeur de la toxicité,quelle que soit la déverse.

Les rejets décantés du centre V, reconnu lui comme centre déversant des eaux non toxiques, présentent une diminution notable de la toxicité par rapport aux effluents non décantés (Δ = - 1 % $\longrightarrow$ Δ = + 11 %). Cette même remarque est à faire pour le centre IV et le canal CRIR.

Pour un autre site atoxique - VI - nous constatons l'effet inverse : les rejets non décantés sont moins nocifs (Δ = - 44 %) que les mêmes échantillons décantés (Δ = - 11,5 %). Il faut signaler que dans ce dernier cas nous comparons ici des valeurs négatives de Δ .

Au niveau de la station d'épuration STEPI, les valeurs de toxicité sont semblables avant et après décantation des échantillons, excepté :

- pour la ligne Sud (LSS) où la nocivité est plus marquée avant la décantation.
- pour la sortie FT où une baisse très sensible de la luminescence est enregistrée avec la décantation (15à4%).

Quant au réseau ménager, décantation ou non des effluents, les valeurs de toxicité restent stables.

IV-4-e) Evolution de la toxicité dans le temps

Lors de la répétition des essais, nous avons constaté, pour une série d'échantillons (effluents domestiques du CRD1), que les résultats de toxicité, deux mois après les premières analyses, étaient nettement plus faibles, les valeurs de CE_{50} étant approximativement deux à cinq fois supérieures.

Cette analyse ne vaut que pour ce collecteur, puisque des essais supplémentaires réalisés avec les <u>mêmes réactifs bactériens</u> sur les autres types d'effluents domestiques (CRD3) n'ont apporté aucune variation des résultats.

Prélèvement Juin 1982		N° du réactif bactérien	Test effectué en	$CE_{50-10\ mn}$ (en %)	
Date	Heure			X	M
4-5	20 h - 8 h	C	Juill.	13,5	9,5
		D	-	5,5	
		G	Sept.	38	
		H	Nov.	> 55(*)	
5-6	8 h - 8 h	A	Juill.	3,25	3,25
		G	Sept.	37	37
		H	Nov.	37	
7-8	"	B	Juill.	30,5	20
		E		9,5	
		F		20	
		G	Sept.	23,5	24
		H	Nov.	24,5	
8-9	"	C	Juill.	8,5	6,4
		D	-	4,3	
		G	Sept.	39	47
		H	Nov.	55(*)	
9-10	"	C	Juill.	10,75	7,75
		D	-	4,75	
		G	Sept.	28	
		H	Nov.	>55(*)	
10-11	"	A	Juill.	17,5	18
		D	-	18,5	
		G	Sept.	50	42
		H	Nov.	34	
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	A	Juill.	23	25,25
		E	-	27,5	
		G	Sept.	41,5	40,25
		H	Nov.	39	
13-14	"	A	Juill.	12	23,5
		D	-	35	
		G	Sept.	37,5	32,75
		H	Nov.	28	

Tableau n° 24 : Evolution de la toxicité des eaux du collecteur CRD1 dans le temps

$CE_{50-10\ mn}$ obtenues avec les différents réactifs bactériens

* CE_{50} extrapolée

Temps	juillet-août 1982	janvier 1983
Nature test / Centre	CI_{50} daphnies	CI_{50} daphnies
	EC_{50} bactéries	EC_{50} bactéries
I S	0,38	0,583 ± 0,042
11 - 12	5' 0,085 ± 0,010 10' 0,085 ± 0,014	5' 0,185 ± 0,017 10' 0,185 ± 0,024
III S	0,24	0,883 ± 0,029
11 - 12	5' 1,23 ± 0,45 10' 1,00 ± 0,28	5' 3,08 ± 0,45 10' 2,64 ± 0,44
II S	0,68	1,25 ± 0,132
11 - 12	5' 0,18 ± 0,04 10' 0,20 ± 0,03	5' 0,35 ± 0,02 10' 0,36 ± 0,01
II R	4,2	25,33 ± 7,57
11 - 12	5' 16,45 ± 3,76 10' 15,75 ± 5,38	5' 44,6 ± 4,13 10' 45,2 ± 4,65

TABLEAU N° 25 : EVOLUTION DE LA TOXICITÉ DES EFFLUENTS INDUSTRIELS DANS LE TEMPS, ÉVALUÉE À L'AIDE DES TESTS MICROTOX ET DAPHNIES (Is, IIR ET S, IIIs)

Ces derniers résultats permettent d'exclure l'éventualité d'un manque de sensibilité du réactif bactérien.

Une quatrième série d'analyse a été faite début novembre soit six semaines après la troisième série. Les résultats obtenus sont relativement proches de ceux de la troisième campagne. Ceci semble confirmer qu'une diminution de la toxicité des effluents collectés par le CRD1, ait eu lieu entre juillet et septembre qui résulterait soit de la durée du stockage, soit de la répétition de congélations et décongélations successives capables de modifier la nature de ces effluents domestiques. (tableau n° 24)

Cette diminution de toxicité, constatée lorsque la durée de stockage se prolonge, a été aussi mise en évidence avec les effluents industriels. En effet, quelques échantillons :

- IS - 11/12
- IIS - 11/12
- IIR - 11/12
- IIIS - 11/12

ont été testés à nouveau six mois après les premiers essais, avec trois souches bactériennes différentes.

Les résultats attestent d'une toxicité au moins deux fois plus faible, confirmés par ailleurs par des tests daphnies effectués simultanément. (tableau n° 25)

IV-4-f) Etude des phénomènes de synergie toxique des effluents

La complexité chimique des effluents, qui pour certains d'entre-eux, vont se trouver mélangés dans un même collecteur les conduisant vers les eaux de surface ou vers la STEP I, pose le problème d'une synergie toxique éventuelle de ces différents rejets.

En ce qui concerne le canal rejets industriels (CRIR), ce phénomène ne semble pas se manifester puisque nous ne pouvons enregistrer avec ces eaux plus de 50 % de diminution de luminescence bactérienne alors que certains composants sont assez toxiques comme les effluents du centre II.

Par contre en ce qui concerne les eaux de la ligne Nord (LNS) dont la CE_{50} est du même ordre de grandeur que celle des effluents qu'elle collecte (I, II et III) il serait intéressant de vérifier si effectivement un tel effet de synergie se produit avec ces différents rejets. Cette démarche ne présente qu'un intérêt théorique puisque ces effluents sont destinés à l'épuration.

Ainsi connaissant la toxicité respective de chacun de ces effluents et leur fraction f dans le flux global de la ligne Nord (LNS), il est possible d'appliquer le modèle proposé par FINNEY pour prédire la toxicité aiguë simultanée des substances chimiques.

Pour le mélange des trois effluents S des sites I, II et III l'équation de la concentration moyenne efficace s'écrit :

$$\frac{1}{CE_{50}(\underbrace{IS,\ IIS,\ IIIS}_{LNS})} = \frac{f\ (IS)}{CE_{50}(IS)} = \frac{f\ (IIS)}{CE_{50}(IIS)} = \frac{f(IIIS)}{CE_{50}(IIIS)}$$

ou f IS, f IIS, f IIIS représentent les fractions de ces effluents dans le mélange.

Exemples de calcul pour la journée du 11-12 juin 1982

rejet IS : 427 M^3
rejet IIS : 632 M^3
rejet IIIS: 532 M^3

total LNS :1591 M^3

f IS : 427/1591 CE_{50} IS : 0,085 %

f IIS : 632/1591 CE_{50} IIS : 0,205 %

f IIIS : 532/1591 CE_{50} IIIS : 1 %

$$\text{soit } \frac{1}{CE_{50}\ LNS} = \frac{427/1591}{0,085} + \frac{632/1591}{0,205} + \frac{532/1591}{1}$$

$$\frac{1}{CE_{50}\ LNS} = 3,157 + 1,937 + 0,334 = 5,428$$

$$CE_{50}\ LNS = \frac{1}{5,428} = 0,184\ \%$$

Or, le 11 - 12 juin, la CE_{50} évaluée par le test Microtox était de 0,275 %.

La CE_{50} calculée étant inférieure à la CE_{50} vraie, il n'existe pas de synergie toxique des trois effluents précédents pour la ligne Nord dirigée vers la STEP I.

IV-4-g) Comparaison des résultats de toxicité enregistrée par le test Microtox et le test daphnie

Trente deux échantillons, représentatifs de tous les sites industriels, de la station d'épuration traitant ces effluents et du canal déversant les effluents industriels présentés non toxiques dans la rivière, ont été analysés simultanément par le test Microtox et par le test daphnie.

Les tests daphnies ont été réalisés au cours des quatre semaines qui ont suivi la réception des eaux et un seul test a été effectué par échantillon. (tableau n° 26)

Ces deux tests ont jugés de la même façon 84 % des échantillons soit pour leur toxicité ou leur non toxicité . (tableau n° 27)

Identification	Période	CI_{50} (daphnies)	CE_{50} (Microtox)
I R	8 - 9 11 - 12	29 90	Δ = 32 Δ = 30
III R	8 - 9 11 - 12	90 47	Δ = 10 Δ = 10
I S	11 - 12	0,38	0,085
III S	11 - 12	0,24	1,00
II R	8 - 9 11 - 12	5,8 4,2	2,4 15,75
II D	8 - 9	90	49
II S	11 - 12	0,68	0,20
VIII aR	8 - 9 11 - 12	90 16	Δ = - 55 Δ = - 6
VIII cR	8 - 9 11 - 12	90 90	Δ = 0 Δ = - 8,5
VIII bR	8 - 9 11 - 12	90 90	Δ = - 18,5 Δ = - 9,5
VIII S	8 - 9 11 - 12	0,85 1,40	1,37 4,27
V R	8 - 9	12,5	Δ = - 45,5
VI R	8 - 9	90	Δ = - 49
IV R	8 - 9	90	Δ = - 18
VII R	8 - 9	90	Δ = - 16
IX D	8 - 9	90	Δ = - 9
CRI R	8 - 9 11 - 12	90 90	Δ = 36 Δ = 31
STEP I LSS	8 - 9 11 - 12	0,46 2,50	1,56 2,30
STEP I LNS	11 - 12	0,80	0,275
STEP I PT	8 - 9 11 - 12	2,8 3,1	11,36 4,73
STEP I FT	8 - 9 11 - 12	90 51	Δ = 23,5 Δ = 38

TABLEAU N° 26 : TOXICITÉ DES EFFLUENTS INDUSTRIELS ÉVALUÉE À L'AIDE DU TEST MICROTOX ET DU TEST DAPHNIE

Nature des réponses	Nombre	Pourcentage
Echantillons jugés toxiques (T) ou très toxiques (TT) par les deux tests	13	40,6
Echantillons jugés non toxiques (NT) par les deux tests	14	43,7
Microtox T - Daphnies NT	1	3,1
Microtox NT - Daphnies TT	2	6,3
Microtox NT - Daphnies T	2	6,3

TABLEAU N° 27 : RÉSULTATS DE TOXICITÉ ENREGISTRÉE SUR 32 EFFLUENTS AVEC LE TEST DAPHNIE ET LE TEST MICROTOX

Le test bactérien est demeuré négatif dans quatre cas d'effluents alors que le test daphnie y était sensible (eaux pouvant renfermer des déchets d'élastomers ou de textiles synthétiques).

- Par contre, la toxicité d'un rejet, susceptible de contenir des teintures organiques, a été détectée à l'aide du test Microtox alors que le test daphnie est demeuré insensible.

_°_°_°_°_°_

V - DISCUSSION

Un screening de la toxicité des effluents qui font l'objet de notre étude, a été effectué en prenant en compte leur taux de dilution respectif capable d'entraîner 50 % d'extinction de la luminescence bactérienne (BULICH et al, 1982).

Trois types de rejets se différencient (Tableaux n° 28 et 28 bis) :

1) les effluents non toxiques pour lesquels aucune valeur de CE_{50} n'a pu être déterminée :

   . IV R
   . VIII cR, dR, aR, bR
   . IX D
   . VII R
   . V R
   . VI R
   . III R
   . I R
   . CRI R

2) les effluents moyennement toxiques qui n'induisent une diminution de bioluminescence qu'à l'état brut, sinon à peine dilués et auxquels correspondent les valeurs de CE_{50} supérieures à 50 %

   . CRD 2
   . CRD 3

3) les effluents toxiques qui entraînent plus de 50 % de diminution de la luminescence bactérienne au taux de dilution de ½ . (CE_{50} 50 %)

   . CRD 1
   . II R
   . VIII S
   . LSS
   . III S
   . LNS
   . II S
   . I S

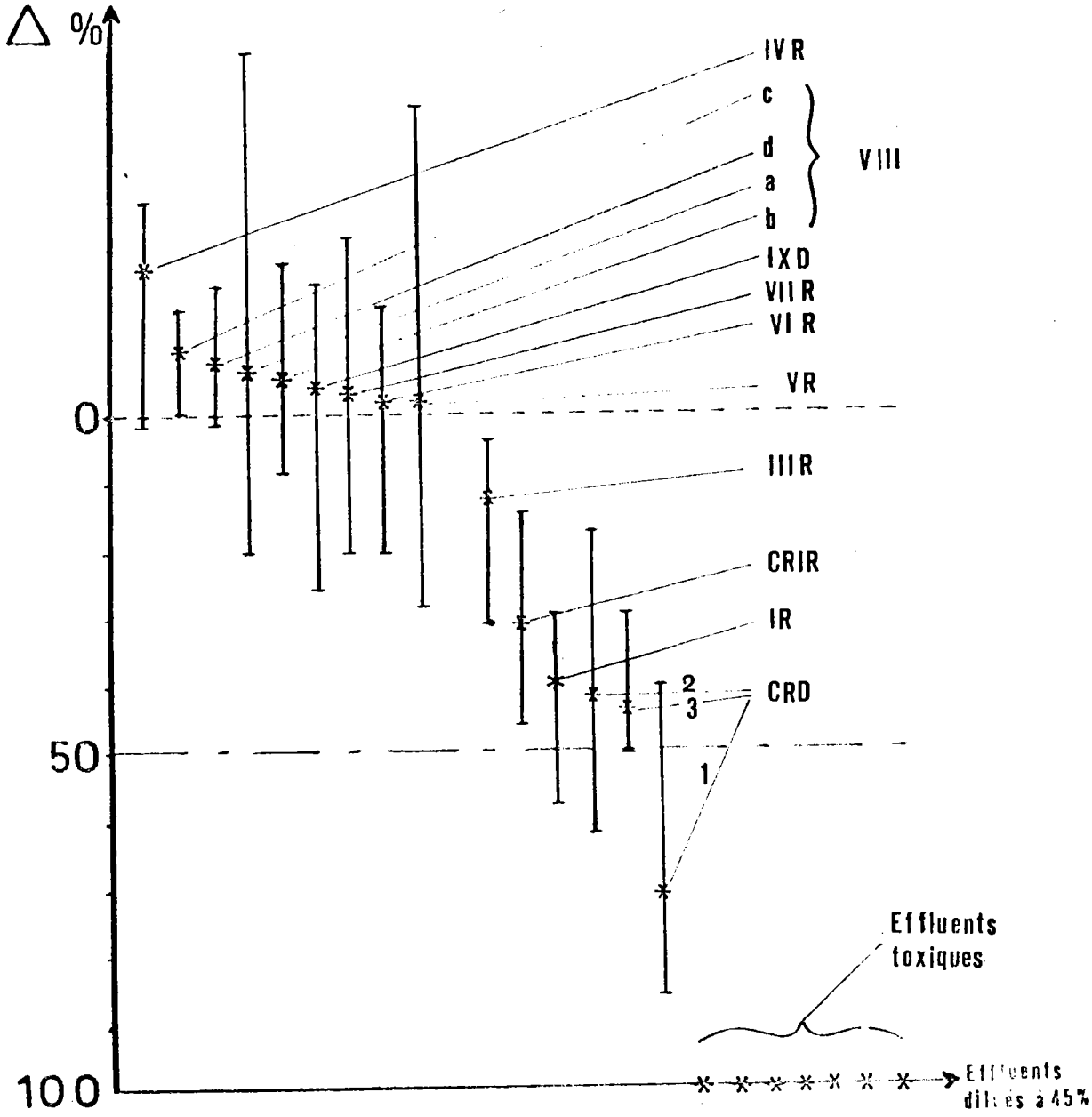


TABLEAU N° 28 : SCREENING DE TOXICITÉ D'EFFLUENTS INDUSTRIELS ET DOMESTIQUES

(les barres correspondent aux valeurs extrêmes de toxicité sur 10 jours)

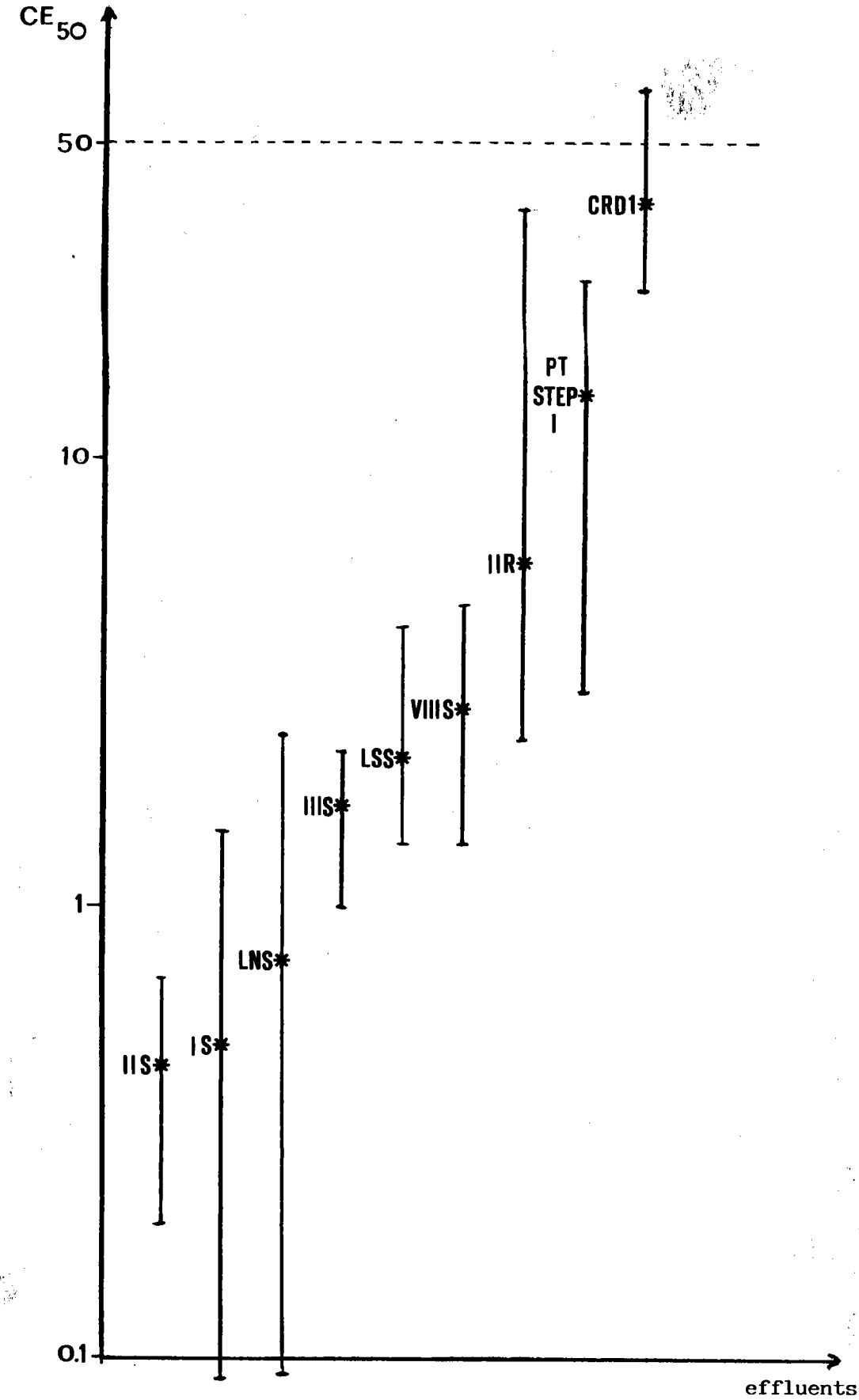


TABLEAU N° 28BIS : SCREENING DE TOXICITÉ DES EFFLUENTS TOXIQUES

(les barres correspondent aux valeurs extrêmes de toxicité sur 10 jours)

Pour cent trente neuf effluents industriels testés, quarante deux sont reconnus toxiques (soit 30 % des échantillons).

Il faut souligner que le tri des rejets industriels est correct puisque les effluents les plus toxiques sont envoyés vers la station de traitement tandis que ne sont rejetés directement dans les eaux de surface que les effluents caractérisés par une toxicité assez faible sinon nulle (à l'exception de site II, répertorié en 3 dans la classification ci-dessus).

Si nous étudions la toxicité de chacun des rejets industriels pendant ces dix jours, nous remarquons que les valeurs de toxicité sont assez différentes d'une journée à l'autre.

Ainsi si nous prenons l'exemple des effluents du centre II envoyés à la rivière et à la station d'épuration, le tableau n° 29 nous montre que la toxicité peut varier selon un facteur 10 au cours de la semaine.

D'une manière générale, la charge toxique la plus faible correspond à la journée dominicale.

Par contre, en ce qui concerne les rejets domestiques, la charge toxique des effluents est plus régulière puisque nous ne relevons pas de variation importante de la toxicité pendant la durée de notre analyse (Tableau n° 30).

Cette étude nous a permis d'observer l'évolution de la toxicité d'un effluent entre son point de rejet et son arrivée à la station d'épuration.

Cette observation peut être faite pour le site industriel VIII S où la ligne Sud, draine uniquement les eaux de ce centre jusqu'à la STEP I, distante d'environ mille cinq cents mètres.

L'examen du tableau n° 31 montre que pour la période du 5 au 10, la toxicité de ces effluents est comparable tout au long de leur acheminement ; pour la période du 11 au 14 par contre, nous enregistrons une baisse de la nocivité en fin de parcours (deux fois plus faible).

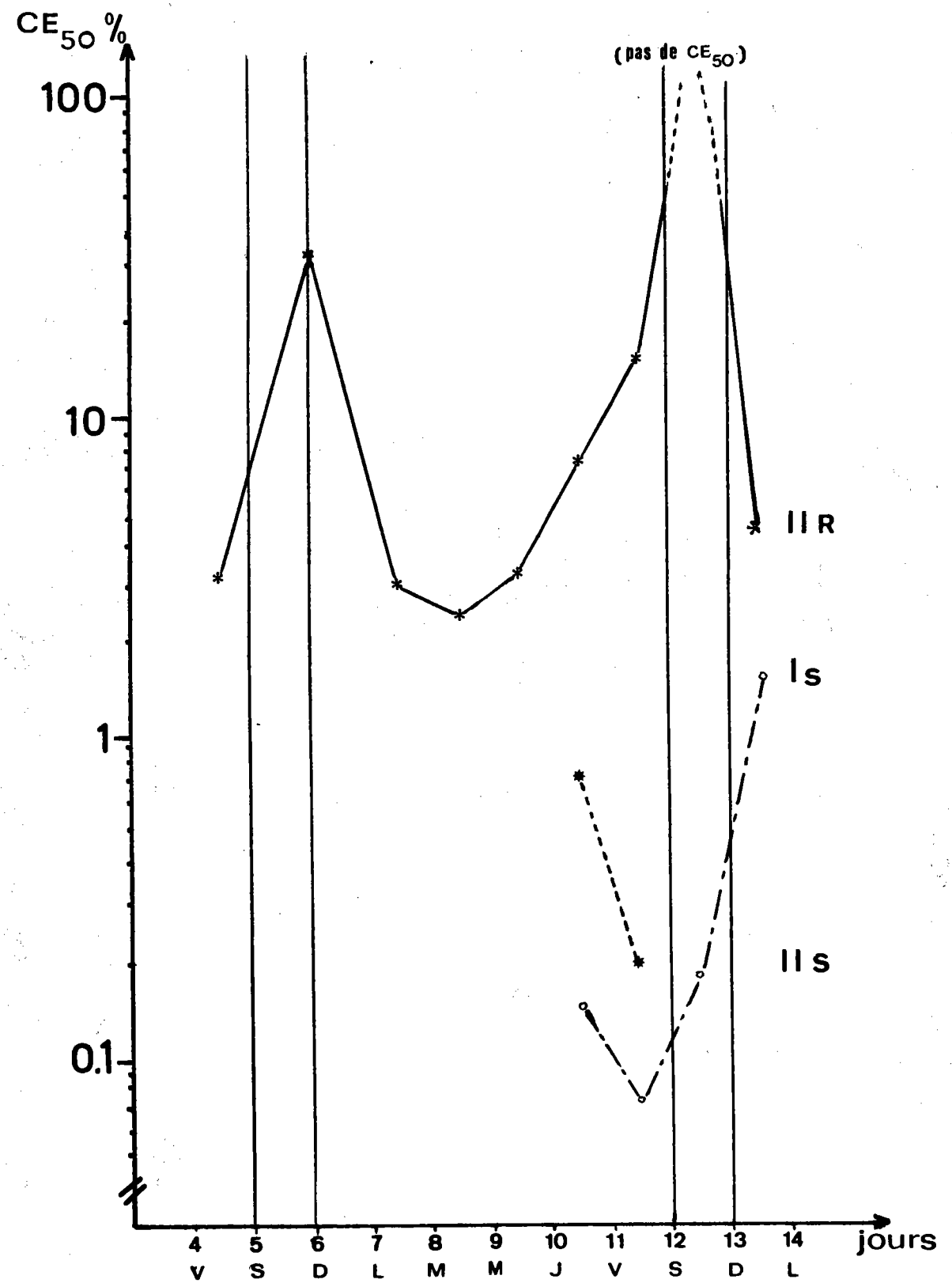


TABLEAU N° 29 : VARIATIONS DE LA TOXICITÉ DES REJETS INDUSTRIELS SUR UNE PÉRIODE DE DIX JOURS (Is, IIs, IIR)

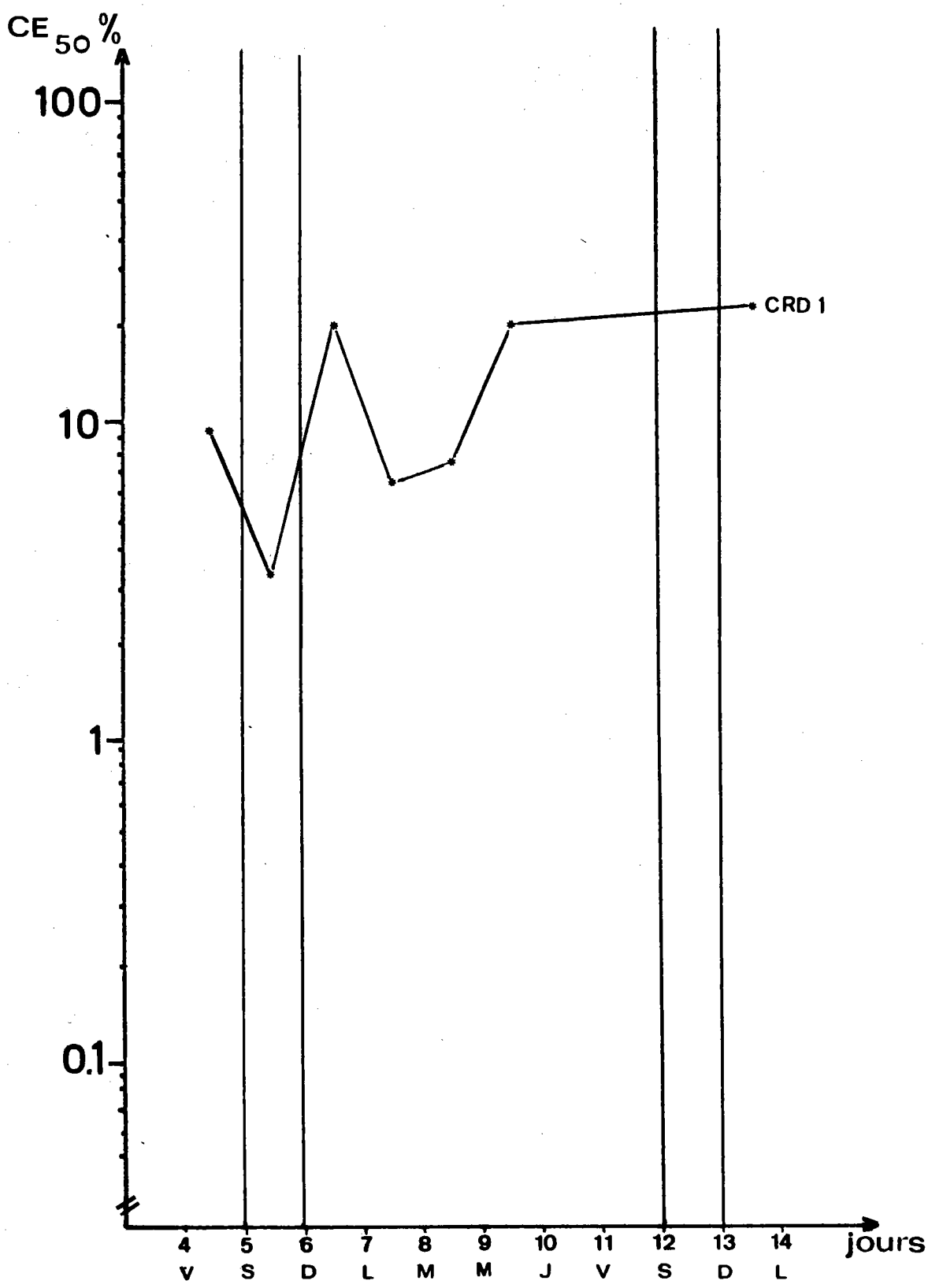


TABLEAU N° 30 : VARIATIONS DE LA TOXICITÉ DES REJETS DOMESTIQUES SUR UNE PÉRIODE DE DIX JOURS (CRD1)

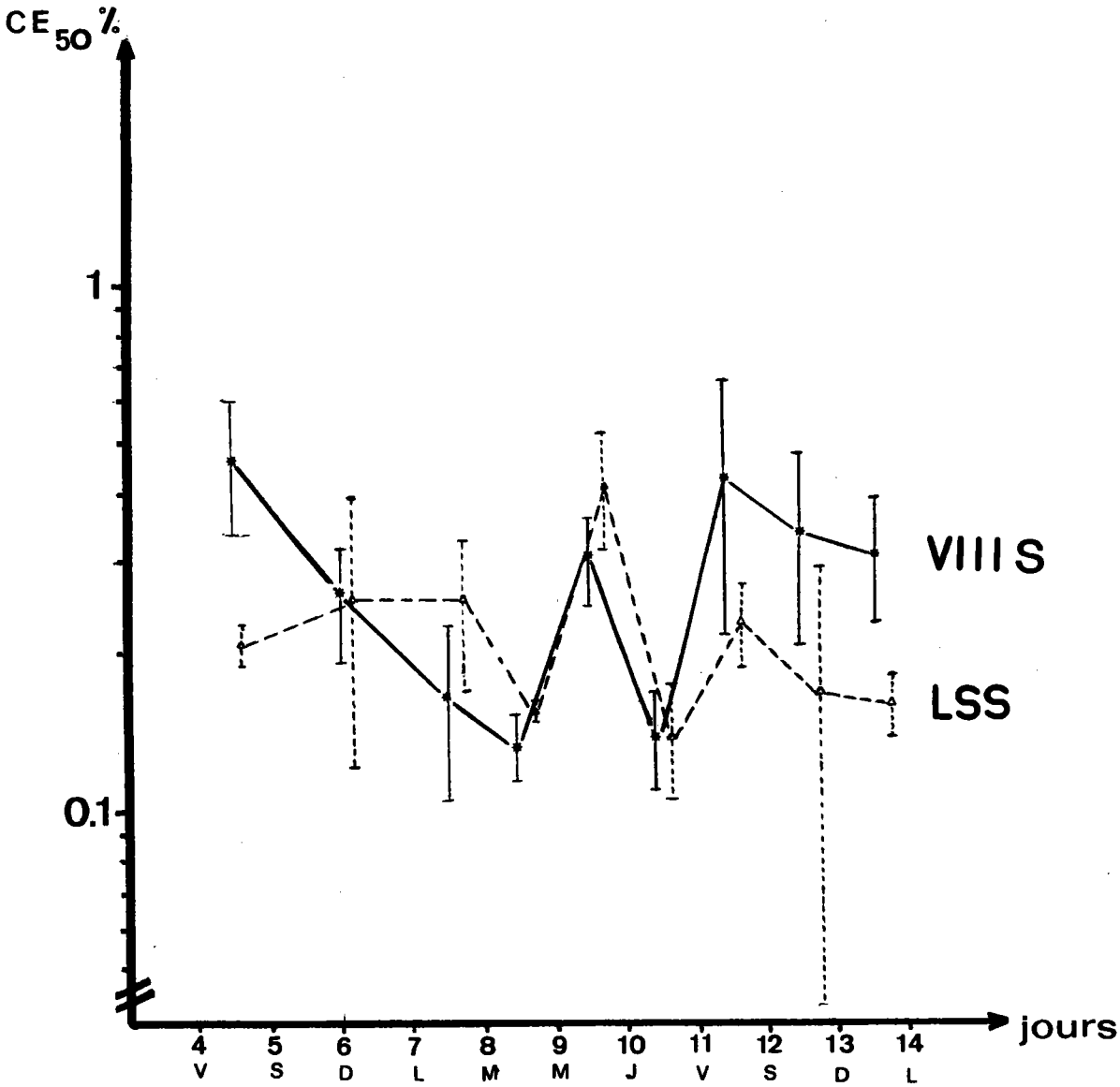


TABLEAU N° 31 : COMPARAISON DE LA TOXICITÉ D'UN MÊME EFFLUENT PRÉLEVÉ AUX DEUX EXTRÊMITÉS D'UN COLLECTEUR (VIIIS ET LSS)

Cette diminution de toxicité peut être due :

. à la dégradation des substances rejetées au cours de cette seconde période (11 - 14) et à la formation de dérivés moins toxiques.

. ou à des effets d'antagonisme lorsqu'elles sont mélangées dans les canalisations.

Par contre sur le réseau ménager, aucune différence de la toxicité des eaux usées n'a été notée entre les différentes points d'un même collecteur (CRD 3).

L'ensemble de ces résultats nous amène à faire les commentaires suivants :

1) les effluents d'un site industriel peuvent manifester une toxicité très élevée qui est fonction de deux paramètres principaux :

   . de la structure chimique des substances rejetées, c'est à dire de la nature de l'activité du centre considéré

   . de leur taux de dilution au sein de l'effluent

2) pour un même type de rejet, la toxicité des eaux varie dans des proportions importantes d'un jour à l'autre, selon l'intensité de production du site d'origine.

Dans ces conditions, il semble difficile d'effectuer un monitoring stéréotypé des effluents d'un site industriel complexe.

Un contrôle périodique de leur nocivité s'avère souhaitable.

Dans un tel contexte, le test d'inhibition de luminescence bactérienne - **test Microtox** - semble bien adapté à la surveillance en semi-continu des rejets, par exemple, avec une cadence des essais journalière.

L'efficacité du traitement de ces effluents industriels et domestiques entrepris **dans les stations d'épuration** a été contrôlée également à l'aide de ce test.

Il apparaît que si la toxicité des eaux à leur entrée dans la station est importante vis à vis des bactéries, celle-ci diminue à chacune des étapes du traitement, pour être quasiment nulle en sortie. Cependant il peut encore subsister une légère toxicité lorsque les effluents d'entrée manifestent une nocivité importante (Tableau n° 32).

S'il n'est pas de pratique courante d'effectuer un contrôle biologique de la toxicité des eaux transitant en station d'épuration, ce contrôle serait pourtant intéressant à double titre :

1) d'une part pour juger du potentiel toxique des eaux d'entrée, ce qui permettrait de prévenir l'altération du processus du traitement biologique et d'assurer une protection des boues activées vis à vis d'effluents trop toxiques, en les diluant par exemple.

2) d'autre part pour vérifier l'efficacité de l'épuration . Que les rejets, une fois traités, rejoignent le réseau des eaux superficielles ou qu'ils soient destinés à la production d'eau potable, il est nécessaire de s'assurer de leur inocuité.

En ce qui concerne l'échantillonage des effluents, il semble que **la décantation** des eaux, préalable à leur stockage entraîne une légère diminution de la toxicité, de l'ordre de 14 %.

Cette étape montre par ailleurs qu'il est préférable de tester les échantillons le plus tôt possible afin d'éviter toute baisse de **toxicité inhérente à la durée** du stockage des eaux.

Une diminution de toxicité a été enregistrée après deux mois de congélation (-20°C) pour les effluents domestiques et après six mois dans le cas des effluents industriels (résultats corroborés à la fois par le test Microtox et le test daphnie). (Tableau n°33)

La répétabilité du test a été étudiée à l'aide des résultats de toxicité des effluents industriels pour lesquels une CE_{50} a pu être déterminée.

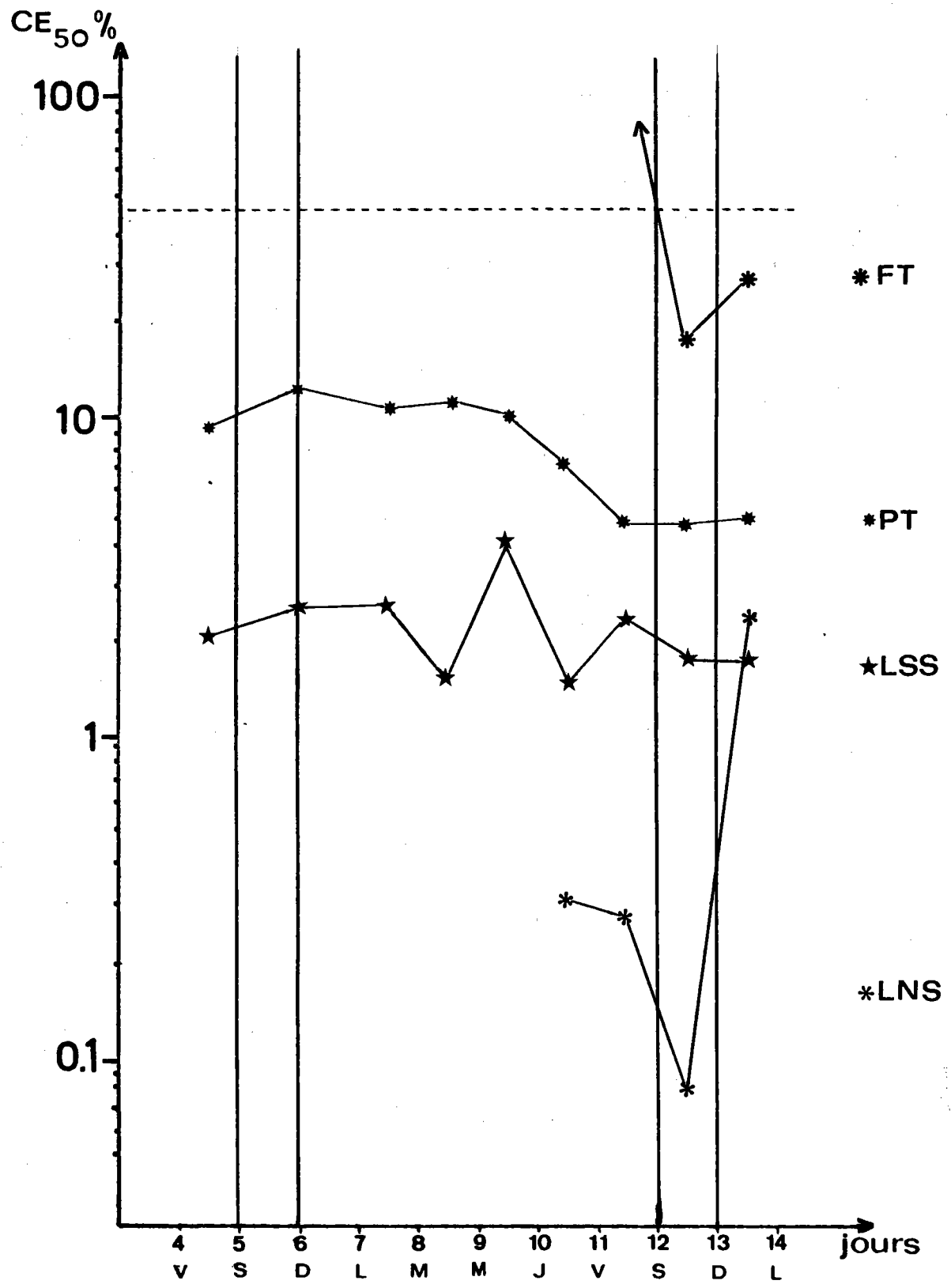


TABLEAU N° 32 : EVOLUTION DE LA TOXICITÉ DES EFFLUENTS INDUSTRIELS DURANT LEUR TRAITEMENT À LA STATION D'ÉPURATION (STEP I = LNS, LSS, PT, FT)

FT = FIN TRAITEMENT
PT = PRÉ-TRAITEMENT
LSS = LIGNE SUD ARRIVÉE STEP
LNS = LIGNE NORD ARRIVÉE STEP

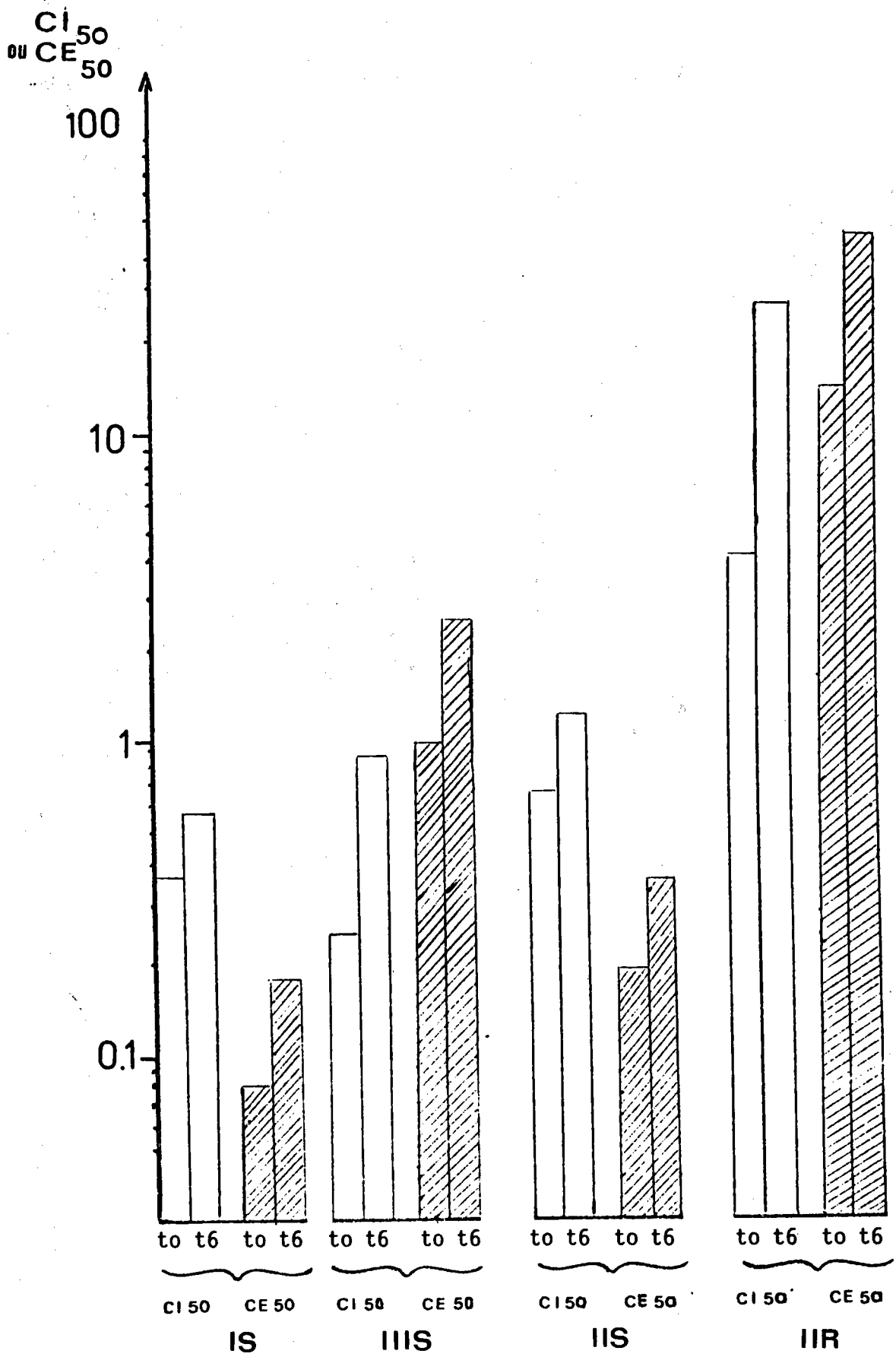


TABLEAU N° 33 : EVOLUTION DE LA TOXICITÉ DES EFFLUENTS INDUSTRIELS DANS LE TEMPS, ÉVALUÉE À L'AIDE DES TESTS MICROTOX ET DAPHNIES (SITES I, II, III)

Evaluation test daphnie
Evaluation test Microtox

to = temps 0
t6 = to + 6 mois

Ainsi la valeur moyenne des CE_{50} caractérisant la nocivité des échantillons répertoriés en 3 dans le screening est donnée avec un coefficient de variation (CV) de l'ordre de 24 %. Ce chiffre correspond à la moyenne des CV obtenus pour les huit effluents, après trois analyses effectuées à l'aide de trois réactifs bactériens différents. (Tableau n° 34)

Ce coefficient de variation est supérieur à celui de 18 % obtenu par BULICH et al (1981) dans une étude similaire.

ROBRA, en 1979, lors d'une étude analogue, trouvait des coefficients variant entre 2 et 29 %.

Néanmoins ce chiffre de 24 %, si nous le comparons aux valeurs des CV obtenus avec les tests traditionnels d'écotoxicité nous semble acceptable pour un test biologique. Lors de travaux antérieurs sur la toxicité aiguë des substances minérales sur les algues (Chlorella vulgaris), le CV affectant la valeur moyenne des CI_{50} - 96 heures a été évalué à 30 % (JOUANY et al, 1982).

Nous avons comparé la répétabilité du test Microtox, à celui du test daphnie pour quatre échantillons industriels pour lesquels ont été réalisées trois réplications des essais dans les deux cas.

Les valeurs moyennes des CE_{50} - 10' Microtox et CI_{50} - 24 h daphnies sont données pour les bactéries et les microcrustacés avec un coefficient de variation quasiment identique, de 10,17 % pour le test bactérien et de 12,73 % pour le test daphnie. (Tableau n° 35)

Le test daphnie étant généralement utilisé pour évaluer la nocivité des effluents, il était intéressant de confronter **la sensibilité** des bactéries luminescentes à celle des crustacés.

Les résultats des tableaux 26 et 36 montrent que,en retenant comme seul critère de sélection des effluents la détermination d'une valeur de CE_{50} ou de CI_{50} , les réponses de ces deux organismes coïncident dans 76,5 % des cas, puisque treize des dix sept échantillons toxiques pour la daphnie se sont révélés également nocifs pour les bactéries.

Identification du site	Nombre de jours n =	Différents coefficients de variation	Coefficient de variation moyen
I S	4	14-16-21-12	15,75
III S	2	45-28	36,5
II R	8	18-13-6-26 16-10-34-8	16,4
II S	2	31-15	23
VIII S	9	26-24-35-14 18-21-49 39-25	27,9
L N S	4	22-9-19-34	21
L S S	9	15-54-32-1 26-25-18 75-13	29,1
STEP I - PT	9	17-24-12-28 12-24-19-15 23	19,3
			23,6

TABLEAU N° 34 : COEFFICIENTS DE VARIATION DES VALEURS DE CE_{50}

Identification du site	$CE_{50-10'}$ bactéries (janvier 1983)	CI_{50-24h} daphnies (janvier 1983)
III S 11 - 12	2,78 2,15 3 2,64 ± 0,44 CV = 16,66 %	0,90 0,85 0,90 0,883 ± 0,029 CV = 3,28
II R 11 - 12	44 40,8 49 44,6 ± 4,13 CV = 9,26 %	22 20 34 25,33 ± 7,57 CV = 29,89
I S 11 - 12	0,20 0,21 0,165 0,192 ± 0,023 CV = 11,98 %	0,57 0,63 0,55 0,583 ± 0,042 CV = 7,20
II S 11 - 12	0,35 0,37 0,36 0,36 ± 0,01 CV = 2,78 %	1,30 1,35 1,10 1,25 ± 0,132 CV = 10,56
Moyenne	CV = 10,17 % ± 5,80	CV = 12,73 % ± 11,82

TABLEAU N° 35 : COMPARAISON DES RÉSULTATS DE TOXICITÉ ÉVALUÉS À L'AIDE DU TEST MICROTOX ET DU TEST DAPHNIE

Identification	Période	CI_{50} (daphnies)	CE_{50} (Microtox)
I R	8 - 9	29	Δ = 32
II S	11 - 12	0,68	0,20
VIII aR	11 - 12	16	Δ = - 6
III R	11 - 12	47	Δ = 10
I S	11 - 12	0,38	0,085
III S	11 - 12	0,24	1,00
II R	8 - 9 11 - 12	5,8 4,2	2,4 15,75
VIII S	8 - 9 11 - 12	0,85 1,40	1,37 4,27
V R	8 - 9	12,5	Δ = - 45,5
STEP I LSS	8 - 9 11 - 12	0,46 2,50	1,56 2,30
STEP I LNS	11 - 12	0,80	0,275
STEP I PT	8 - 9 11 - 12	2,8 3,1	11,36 4,73
STEP I FT	11 - 12	51	Δ = 38

TABLEAU N° 36 : COMPARAISON DES VALEURS DE CE_{50} BACTÉRIES ET CI_{50} DAPHNIES POUR LES EFFLUENTS TOXIQUES

Identification effluents	CI_{50} Test daphnie	Δ % Test Microtox
I R 11-12	> 90	30
III R 8-9	> 90	10
VI R 8-9	> 90	- 49
IV R 8-9	> 90	- 18
VII R 8-9	> 90	- 16
VIII aR 8-9	> 90	- 55
VIII bR 8-9	> 90	- 18,5
VIII bR 11-12	> 90	- 9,5
VIII cR 8-9	> 90	0
VIII cR 11-12	> 90	- 8,5
IX D 8-9	> 90	- 9
CRI R 8-9	> 90	36
CRI R 11-12	> 90	31
STEP I FT 8-9	> 90	23,5
II D 8-9	> 90	CE_{50} = 49

TABLEAU N° 37 : COMPARAISON DES VALEURS DE CI_{50} DU TEST DAPHNIE ET Δ % DU TEST MICROTOX POUR LES REJETS NON TOXIQUES

Ce résultat est meilleur que celui obtenu par DUTKA et KWAN, en 1981, qui ne trouvaient une similitude de réponse Microtox-Daphnia pulex que de 62 % pour une étude de cent effluents, tandis que pour BULICH et al en 1982, ce taux de similitude s'élevait à 72 % (pour deux cent trente cinq échantillons).

Pour les treize échantillons révélés toxiques par les deux tests, les valeurs intrinsèques des CI_{50} ou des CE_{50} obtenues sont comparables.

Il est difficile dans ces conditions de conclure sur la sensibilité respective de ces deux organismes biologiques, dans la mesure où dans 41,7 % des cas les bactéries sont trois fois plus sensibles que les daphnies, l'inverse étant obtenu dans la même proportion pour 58,3 % des cas restants.

Les performances de ce test de bioluminescence étant plus ou moins comparables à celles du test daphnie utilisé pour l'établissement de redevances aux agences de bassin, **le test Microtox**, semble bien adapté au dépistage de la toxicité des effluents complexes.

Dans notre analyse nous remarquons que pour des valeurs de CI_{50} daphnies supérieures à 90 %, nous observons dans 93,3 % des cas, l'absence d'effet toxique sur les bactéries, **une stimulation de la bioluminescence** pouvant même être constatée dans quelques cas. (Tableau n° 37). Cette augmentation de bioluminescence a déjà été notée par BULICH et al (1981) et QURESHI et al (1982) avec certains effluents industriels.

Il ne nous est pas possible d'interpréter cette exaltation de luminescence dans le cadre de notre étude, puisque nous ne connaissons pas la composition chimique des effluents.

Cette augmentation de luminescence peut à priori être interprétée comme un effet bénéfique pour les bactéries. Dans ces conditions, nous pouvons nous demander :

. si ces substances exaltant la luminescence des bactéries et atoxiques pour Photobacterium phosphoreum, sont également dépourvues de toxicité pour les autres espèces?

. dans le cadre de l'évaluation du degré de pollution d'une eau "exaltant la luminescence", s'il est possible de quantifier le taux de ces substances "stimulantes" ? En d'autres termes, existe - t - il une corrélation entre l'augmentation de luminescence et le degré de concentration de ces dérivés dans l'échantillon ?

D'un point de vue méthodologique, ce test d'inhibition de luminescence bactérienne présente plusieurs avantages :

. c'est un test simple, facile à réaliser dont les seules phases délicates résident dans la préparation correcte des solutions à tester et de leur dilution (ce qui vaut d'ailleurs pour tous les tests et n'est pas spécifique de ce test bactérien).

. sa rapidité incontestable est soulignée par le fait qu'il est possible de tester la toxicité d'un effluent en moins d'une heure en évaluant simultanément la valeur de sa CE_{50} vis à vis des bactéries.

Si nous estimons qu'un essai de toxicité (détermination de la CE_{50} à l'aide d'un test préliminaire et d'un test définitif) requiert 150 µl de suspension bactérienne, un flacon réactif des bactéries liophylisées permettra de tester six échantillons différents et ce en moins de six heures.

Par ailleurs, dans le cadre d'un dépistage grossier de la toxicité d'une eau, lorsqu'une estimation globale du niveau des concentrations toxiques est suffisante, nous pouvons envisager de tester à l'aide d'un même réactif bactérien plus d'une vingtaine d'effluents.

Le prix de revient relativement modéré d'un réactif lyophilisé (250F), la rapidité des essais et par voie de conséquence les frais de personnel réduits, font de cette technique un test particulièrement peu coûteux.

Ce test de toxicité qui allie simplicité, rapidité, économie est de ces points de vue nettement supérieur aux autres tests biologiques. Sa représentativité et sa sensibilité comparables au test daphnie en font un outil bien adapté pour le screening de toxicité des eaux, à grande échelle, que ce soit dans le domaine des effluents industriels ou celui des effluents domestiques.

o o o o o

CONCLUSION

Un screening de toxicité à grande échelle portant sur des effluents complexes d'origine industrielle et domestique a été réalisé au cours de cette étude. Les effluents provenant d'un vaste site industriel regroupant neuf centres d'activité très diversifiée, orientée essentiellement vers la synthèse organique, ont été collectés pendant 10 jours de suite, à la sortie des sites de production, avant leur déverse finale en rivière et au cours de leur traitement en station d'épuration.

La toxicité a été évaluée à l'aide d'un test d'inhibition de luminescence bactérienne - appelé communément test Microtox. La toxicité d'une eau se traduit par une diminution de la luminescence des bactéries de type Photobacterium phosphoreum, d'autant plus importante que la nocivité est plus élevée. Il est également possible de la quantifier en déterminant une $CE_{50 - 10\ mn}$ qui correspond à la concentration de l'effluent qui entraîne 50 % de diminution de l'intensité lumineuse après un temps de contact de 10 minutes.

Les performances de ce test ont été étudiées au cours de ce travail, en particulier :

- sa répétabilité a été déterminée en testant chaque échantillon toxique en trois exemplaires
- sa sensibilité a été comparée à celle du test daphnie qui constitue en France le test biologique de référence pour le contrôle de la toxicité des effluents.

Cette étude a montré que les effluents analysés peuvent être répartis en deux catégories, comprenant :

- d'une part les effluents toxiques caractérisés par une $CE_{50 - 10\ mn}$ plus ou moins élevée : ils correspondent aux rejets dirigés vers la station de traitement
- d'autre part les effluents atoxiques ou peu toxiques, respectivement sans effet sur la luminescence bactérienne, ou entraînant moins de 50 % de diminution de son intensité : cette deuxième catégorie regroupe les effluents rejetés directement à la rivière sans épuration préalable.

Un classement de la toxicité des eaux peut ainsi être établi pour chaque phase de prélèvement de 24 heures.

Si cette classification garde un profil identique tout au long des dix jours d'étude, nous enregistrons toutefois des fluctuations notables de la toxicité de chacun des effluents d'un jour à l'autre. Ceci souligne la nécessité d'effectuer un contrôle de la qualité des effluents industriels, sinon permanent, tout au moins semi-continu avec une périodicité de 24 heures par exemple.

Au niveau des stations d'épuration, il apparaît que la toxicité des effluents, qu'ils soient domestiques ou industriels, diminue à chacune des étapes du traitement, jusqu'à un niveau relativement bas en sortie de station. A ce stade, la qualité biologique des eaux épurées est fonction de leur taux de toxicité en entrée. Dans ces conditions un contrôle biologique de ce type pourrait s'avérer intéressant dans le cadre d'un monitoring des stations de traitement des eaux.

Les résultats de cette étude soulignent que ce test d'inhibition de luminescence bactérienne présente une sensibilité et une répétabilité comparables à celles du test "daphnie". Par contre, il manifeste une supériorité incontestable par rapport à ce dernier du fait de :

- sa simplicité et sa facilité d'exécution
- sa rapidité puisqu'il est possible d'évaluer la toxicité d'une eau sur les bactéries en moins d'une heure alors qu'il faut compter plus de 24 heures avec les microcrustacés
- son prix de revient réduit puisqu'il limite les frais en personnel technicien (cette remarque ne vaut toutefois que lorsque l'achat du photomètre a été amorti ; on peut raisonnablement espérer que la diffusion de ce test biologique permettra d'en réduire le coût).

La conclusion de ce travail est que, compte-tenu de ses performances, ce test paraît bien adapté pour les essais de screening rapide de toxicité à grande échelle et pour le suivi en semi-continu de la toxicité des eaux, nécessaire dans le cadre du monitoring des effluents industriels ou celui des stations d'épuration des eaux usées domestiques.

o o o o o o

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

. BECKMAN Instruments, 1980, Microtox Instructions for operating, Color Correction and Microtox Bulletin 6984.

. BLAISE C., SKA B., SABATINI G., BERMINGHAM N., et LEGAULT R., 1982, **Potentiel de bioaccumulation de substances toxiques d'eaux résiduaires industrielles à l'aide d'un essai utilisant des algues et des bactéries**, p. 155 - 165, dans Les tests de toxicité aiguë en milieu aquatique, Leclerc H. et Dive D., Colloque INSERM, 106 .

. BLOCK J.C., HERBETH B. et FOLIGUET J.M., 1976, **Influence des méthodes de désinfection sur la toxicité des eaux urbaines**, Communication C.H.A., Association Générale des Hygiénistes et Techniciens Municipaux, Tours.

. BULICH A.A., 1979, **Use of luminescent bacteria for determining toxicity**, p.98 - 106, dans Aquatic Toxicology, ASTM STP 667, Philadelphie.

. BULICH A.A., 1982, **A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples**, Process Biochemistry, 17 (2), 45 - 47.

. BULICH A.A. et GREENE M.W., 1978, **The use of luminescent bacteria for biological monitoring of water quality**, ASTM STP 607, Philadelphie.

. BULICH A.A., GREENE M.W. et ISENBERG D.L., 1981, **The reliability of the bacterial luminescence assay for the determination of toxicity of pure compounds and complex effluents**, p.338 - 347, dans Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, ASTM STP 737, Philadelphie.

. DANOUX L., 1982, **Etude de la toxicité de divers effluents et substances chimiques à l'aide du Microtox**, Thèse d'exercice Pharmacie, UER Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nancy I, 53 p.

. DUTKA B.J. et KWAN K.K., 1981, **Comparison of three microbial toxicity screening tests with the Microtox test**, Bull. Environm. Contam. Toxicol., 27, 753 - 757.

. FINNEY D.G., 1971, **Probit analysis**, 3ème édition, London Cambridge University.

. JOHNSON F.H., EYRING H. et STOVER B.J., 1974, **The theory of rate process** dans Biology and Medicine, John Wiley and son, New York . Cité par BULICH,1982.

. JOUANY J.M., VASSEUR P. et FERARD J.F., 1982, **Ecotoxicité directe et intégrée du chrome hexavalent sur deux niveaux trophiques associés :** *Chlorella vulgaris* et *Daphnia magna*,Environm. Pollution, (séries A), 27, 207 - 221.

. KENAGA E.E., 1978, **Test organisms and methods for early assessment of acute of toxicity of chemicals**, Environ. Sci. and Techn., 12, 1322 - 1329. Cité par BULICH, 1982.

. LEBSACK M.E., ANDERSON A.D., DE GRAEVE G.M. et BERGMAN H.L., 1981, **Comparison of bacterial luminescence and fish bioassay results for fossil-fuel process waters and phenolic constituents**, p. 348 - 356 dans Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, ASTM STP 737, Philadelphie.

. QURESHI A.A., FLOOD K.W., THOMPSON S.R., JANHURST S.M., INNISS C.S. et ROKOSH D.A., 1982, **Comparison of a luminescent bacterial test with other bioassays for determining toxicity of pure compounds and complex effluents**, p. 179-195 dans Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, ASTM STP 766,Philadelphie.

. ROBRA K.H., 1979, **Determining acute toxic concentrations by means of luminescence measurements with** *Photobacterium phosphoreum*, Cité par BULICH, 1981.

. SAMAK Q.M. et NOISEUX R., 1980, **Acute aquatic toxicity measurement by the Beckman Microtox**, Communication 7ème atelier annuel de toxicité aquatique, Montréal.

. SENAT F.W., BUDIWGER F.E., et MUELLER P.K., 1965, Journal of Bacteriology, 90, 832 -833.

. WEBER C.I., 1981, **Comparison of the response of Microtox, Fish and Invertebrates to effluent toxicity.** US Environmental Protection Agency-Quality Assurance Newsletter, 4, (2), 2-3.

. YATES I.E. et PORTER J.K., 1982, **Bacterial bioluminescence as a bioassay for Mycotoxins**, Appl. and Environ. Microbiol., 44 (5), 1072 - 1075.

_o_o_o_o_o_

A N N E X E - 1

_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_

NORME EXPERIMENTALE AFNOR - TOXICITE VIS A VIS DES ALGUES

But :

Détermination de l'inhibition de croissance algale par une substance. (CI_{50} - 5 jours)

Matériel biologique :

Algues unicellulaires = Scenedesmus subspicatus

Milieu de culture et d'essai :

Milieu Lefèvre - Czarda modifié par l'incorporation d'oligo-éléments.

. Composition du milieu LC Oligo :

- Solution de base :

$Ca\ (NO_3)_2,\ 4\ H_2O$	40	mg
$K\ NO_3$	100	mg
$Mg\ SO_4,\ 7\ H_2O$	30	mg
$K_2\ H\ PO_4$	40	mg
H_2O distillée qsp	1000	ml

- Oligo-éléments I :

$Cu\ SO_4,\ 5\ H_2O$	0,3	mg
$(NH_4)_6\ Mo_7\ O_{24}$	0,6	mg
$Zn\ SO_4,\ 7H_2O$	0,6	mg
$Co\ Cl_2,\ 6H_2O$	0,6	mg
$Mn\ (NO_3)_2,\ 4\ H_2O$	0,6	mg
$C_6H_8C_7,\ H_2O$	0,6	mg
$H_3\ BO_3$	0,6	mg
H_2O distillée qsp	10	ml

- Oligo-éléments II :

Citrate de fer	16,25 mg
Sulfate de fer	6,25 mg
Perchlorure de fer	6,25 mg
H_2O distillée qsp	10 ml

Incorporation des oligo-éléments = 0,5 ml de chaque solution par litre de solution de base.

Appareillage :

. fioles coniques 50 ml
. tubes à essais en verre borosilicaté
. dispositif régulateur de température à 24°C $\pm$ 3°C
. dispositif d'homogénéisation des cultures
. dispositif d'éclairage par lampe de spectre GRO LUX ou de type équivalent, installé de façon à assurer au niveau des récipients de culture, un éclairement homogène moyen de 2500 lux. (minimum = 1000 maximum = 4000)
. dispositif permettant d'obtenir un photopériodisme de 16 H d'éclairage pour 8 H d'obscurité.
. lux - mètre
. compte cellule de Mallasez ou Coulter - counter
. spectrophotomètre (665 nm)

Mode opératoire :

. contrôle de la sensibilité du réactif biologique et de la conformité d'application du protocole expérimental ($CI_{50-5\ jours}$ du $Cr_2O_7K_2$ comprise entre 1,07 et 2,17 mg/l)
. préparation des solutions de substances à expérimenter
. préparation de l'inoculum (5×10^6 à 5×10^7 cellules par ml de culture)
. essai préliminaire pour situer la CI_{50}
. essai définitif afin de recouvrir un intervalle de concentration comportant si possible 4 valeurs de CI_{50} comprises entre 10 et 90 %

Expression des résultats :

Sur le diagramme gausso - logarithmique, tracer la droite de régression à partir des points pour lesquels les pourcentages d'inhibition sont compris entre 10 et 90 % et en déduire la $CI_{50-5\ jours}$ de la substance.

Ces résultats ne sont valables que si la moyenne des concentrations en cellules des essais témoins au cinquième jour est au moins cinq fois supérieure à la moyenne des concentrations des essais témoins au début de l'expérience.

NORME EXPERIMENTALE AFNOR - TOXICITE VIS A VIS DES DAPHNIES

But :

Détermination de l'inhibition de la mobilité de daphnies par une substance. ($CI_{50-24\ heures}$)

Matériel biologique :

Crustacé cladocère = Daphnia magna Straus de troisième génération au moins, obtenue par parthogénèse dans des conditions d'élevage définies et de taille comprise entre 500 et 800 µm.

Milieu d'essai :

. Composition : $Na\ H\ CO_3$ ..... 200 mg

$Ca\ Cl_2$ ..... 224 mg

$K_2\ SO_4$ ..... 26 mg

H_2O distillée qsp 1000 ml

. pH = 8 ± 0,2

. teneur en O_2 dissous : 80 % de la saturation

. dureté totale = 250 ± 25 mg/l ($Ca\ CO_3$)

Nota : les projets actuels tendent à vouloir incorporer du magnésium dans le milieu d'essai ($\frac{Ca}{Mg} = \frac{4}{7}$)

Appareillage :

. ph-mètre

. doseur d'O_2 dissous

. tube à essais

. pipettes "Pasteur"

. enceinte climatisée à 20°C et à l'obscurité

Mode opératoire :

. contrôle du matériel biologique avec le test au $Cr_2 O_7 K_2$

. $0,9 \text{ mg/l} < CI_{50-24 \text{ heures}} \; Cr_2 O_7 K_2 < 1,5 \text{ mg/l}$

. essai préliminaire afin de cadrer la $CI_{50-24 \text{ heures}}$

. essai définitif

Une série de dix concentrations de manière à recouvrir l'intervalle des concentrations définies lors de l'essai préliminaire, est retenue. (dix concentrations constituées à la puissance de dix près par dix termes sucessifs de la progression géométrique bornée de raison 1,3) afin de pouvoir faire passer le pourcentage d'immobilisation de 0 à 100 %.

. pour chaque concentration, quatre tubes contenant chacun cinq daphnies sont préparés

. après 24 H, dans chaque tube, les daphnies encore mobiles sont dénombrées.

Expression des résultats :

. pourcentage d'immobilisation = 100 - S (somme des nombres de daphnies mobiles en fin d'essai dans les quatres tubes correspondants à une concentration donnée)

. après avoir tracé sur diagramme gausso - logarithmique, la droite de régression des pourcentages d'immmobilisation, il est possible de déterminer la $CI_{50-24 \text{ heures}}$

. afin de tenir compte d'une possible variation de l'état physiologique du réactif biologique, on calcule la :

$$CI_{50-24h} \text{ corrigée} = CI_{50} \times \frac{1,2}{CI_{50-24h} \; Cr_2 O_7 K_2 \; \text{mg/l}}$$

. conditions de validité du test :

- la teneur en O_2 dissous en fin d'essai doit être supérieure ou égale à 25 % de la saturation
- l'immobilisation des daphnies dans les tubes témoins doit être inférieure ou égale à 10 %

NORME EXPERIMENTALE AFNOR - TOXICITE VIS A VIS DES POISSONS

But :

Détermination de la concentration qui en 24 h tue 50 % des poissons (CL_{50-24h}) par une substance.

Matériel biologique :

Brachydanio rerio (poissons "zèbres") de 3 cm $\pm$ 0,5, provenant d'un lot de poissons maintenus durant huit à dix jours dans les conditions du test.

Milieu d'essai :

. Composition de l'eau de dilution :

Solution I	: $Ca\ Cl_2, 6H_2O$	320 mg
	$NaCl$	29 mg
	$Na\ NO_3$	9 mg
	H_2O distillée	1000 ml
Solution II	: $Mg\ SO_4, 7H_2O$	151 mg
	$Na_2\ SO_4$	79 mg
	H_2O distillée	1000 ml
Solution III	: $Na\ H\ CO_3$	27 mg
	H_2O distillée	1000 ml

L'eau de dilution est préparée en ajoutant sucessivement 50 ml de solution I, 50 ml de solution II et 500 ml de solution III, pour un volume final de 1000 ml.

. pH = 7,8 ± 0,2
. dureté = 100 mg/l ($CaCO_3$)
. concentration en O_2 dissous supérieure ou égale à 90 % de la saturation .

Appareillage :

. aquarium ou tout autre récipient permettant de réaliser le test dans de bonnes conditions.
. dispositif de régulation de température (20°C ± 1)
. doseur d'oxygène dissous

Mode opératoire :

. contrôle du matériel biologique : Cl_{50-24h} du dichromate de potassium doit être comprise entre 175 et 355 mg/l
. préparation des solutions à tester
. essai préliminaire (5 poissons par concentration) afin de localiser la CL_{50-24} heures
. essai définitif (deux récipients essai par concentration et deux récipients témoin). La série de concentrations est choisie de manière à recouvrir l'intervalle des concentrations déterminées lors de l'essai préliminaire.
On s'attachera à obtenir 3à 4 concentrations pour lesquelles la mortalité est comprise entre 10 et 90 %.
. mesure de l'oxygène dissous. La teneur en O_2 dissous doit être au moins égale à 70 % de la saturation en fin de test.

Expression des résultats :

. après avoir tracé la droite de régression à partir des points pour lesquels les pourcentages de mortalité sont compris entre 10 et 90 %, on déduit la CL_{50-24h} .

Dans ce cas, d'une possible variation de la sensibilité du matériel biologique, la CL_{50-24h} corrigée est calculée ainsi :

$$CL_{50-24h} \text{ corrigée} = CL_{50-24h} \times \frac{265}{CL_{50-24h} \text{ du dichromate de K mg/l}}$$

. Le pourcentage de mortalité des témoins doit être nul.

A N N E X E - 2

_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_*_

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		Δ % APRÈS 5 MN (MOYENNE DE 2 ESSAIS) REJETS RIVIÈRE	
DATE	HEURE	CENTRE I	CENTRE III
4-5	20 H - 8 H	58	70
7-8	8 H - 8 H	22	32
8-9	"	29,5	13,5
9-10	"	32	- 2
10-11	"	36	3,3
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	37	26
11-12	"	27	7
12-13	"	43	3,5
13-14	"	27	9

TABLEAU N° 2BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE DES CENTRES I ET III

Δ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 %

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		CE 50 APRÈS 5 MN REJET À LA STEP					
		CENTRE I			CENTRE III		
DATE	HEURE	N*	M ± S (%)	CV %	N*	M ± S (%)	CV %
4-5							
7-8			/			/	
8-9							
9-10							
10-11	16 H - 8 H	3	0,135 ± 0,015	11	3	2,37 ± 0,72	30
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	3	0,127 ± 0,009	7	3	2,12 ± 0,50	24
11-12	8 H - 8 H	4	0,085 ± 0,010	12	3	1,23 ± 0,45	37
12-13	"	5	0,185 ± 0,038	21			
13-14	"	3	1,510 ± 0,257	17			

TABLEAU N° 3BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET À LA STATION D'ÉPURATION STEP I DES CENTRES I ET III

$CE_{50-5\ mn}$ ou taux de dilution des eaux entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes

n = nombre de réactifs bactériens utilisés

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		CE_{50} APRÈS 5 MN CENTRE II					
		REJET RIVIÈRE			REJET STEP I		
DATE	HEURE	N	M ± S (%)	CV %	N	M ± S (%)	CV %
4-5	20 H - 8 H	3	3,05 ± 0,52	17			
5-7	8 H - 8 H	3	46,16 ± 6,78	15			
7-8	"	3	2,88 ± 0,19	7			
* 8-9	"	3	2,3 ± 0,6	26			
9-10	"	3	2,93 ± 0,33	11			
10-11	"	3	6,24 ± 0,31	5	4	0,67 ± 0,25	37
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	3	5,63 ± 0,49	9	4	0,32 ± 0,12	37
11-12	"	3	16,45 ± 3,76	23	4	0,18 ± 0,04	22
12-13	"	2	INDÉTERMINÉE ** EAU PEU TOXIQUE (VOIR △ %)				
13-14	"	3	4,36 ± 0,17	4			

TABLEAU N° 4BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE ET STATION D'ÉPURATION STEP I DU CENTRE II

$CE_{50-5\ mn}$ ou taux de dilution de l'effluent qui entraîne 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 5 minutes de contact

* rejet D du 8 au 9/6 - 8 h 8 h	= $CE_{50-5\ mn}$ (extrapolée) = 65 % ± 27

** △% = - 9 %

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 5 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	- 26,5
7-8	8 H - 8 H	1,3
8-9	"	- 14
9-10	"	- 14
10-11	"	- 9,5
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	- 22
11-12	"	- 4
12-13	"	- 58
13-14	"	- 17,5

TABLEAU N° 5BIS : TOXICITÉ DES EAUX DU CENTRE IV

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

Prélèvement Juin 1982		△ % après 5 mn			
		Centre V		Centre VI	
Date	Heure	N	M ± S	N	M ± S
4-5	20 h - 8 h	4	11 ± 7	2	- 2
7-8	8 h - 8 h	3	39,5 ± 14	3	_97 ± 1,5 *
8-9	"	2	- 3,5	2	-30,5
9-10	"	2	8		
10-11	"	2	16	3	- 2 ± 5
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	2	25,5	3	- 27 ± 3
11-12	"	2	1,5	2	- 3
12-13	"	2	1	2	- 10
13-14	"	2	6,5	2	- 7

Tableau n° 6bis : Toxicité des eaux de rejet rivière des Centres V et VI

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 %

* $CE_{50-5\ mn}$ = 32 % ± 6

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 5 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	- 2,5
7-8	8 H - 8 H	6
8-9	"	- 11
9-10	"	1
10-11	"	- 22
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	- 21
11-12	"	17
12-13	"	- 10,5
13-14	"	- 8

TABLEAU N° 7 BIS : TOXICITÉ DES EAUX DU CENTRE VII

△ % ou pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 10 minutes avec des eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 5 MN (MOYENNE DE 2 ESSAIS)		
DATE	HEURE	DÉVERSE A	DÉVERSE B	DÉVERSE C
4-5	20 H - 8 H	* - 2	- 7	*** - 5 ± 2
5-7	8 H - 8 H	- 2,5	1	* - 8
7-8	"	* - 4,5	- 3	- 13
8-9	"	*** - 46 ± 10	- 13,5 ± 9	- 4,5
9-10	"	* - 10,5	* - 2,5	- 9
10-11	"	* - 10,5	- 10	- 9
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	* - 1,5	- 17	- 8,5
11-12	"	* - 1	- 9	- 7,5
12-13	"	- 3	- 3	- 12
13-14	"	10	* 0,5	- 4

TABLEAU N° 8BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE DU CENTRE VIII

△ % ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 %

* n = 1

*** n = 3

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 5 MN	
		REJET D	RIVIÈRE
DATE	HEURE	N	M
4-5	20 H - 8 H	2	- 29,5
5-7	8 H - 8 H	2	- 2,5
7-8	"	2	- 9,5
8-9	"	2	- 7
9-10	"	2	- 3
10-11	"	1	- 15,5
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	1	- 6
11-12	"	2	- 11
12-13	"	1	- 6

TABLEAU N° 9BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET RIVIÈRE DE L'ATELIER D DU CENTRE VIII

△% ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 %

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		$CE_{50-5\ mn}$		
DATE	HEURE	N	M ± S (EN %)	CV (EN %)
4-5	20 H - 8 H	5	4,42 ± 0,63	14
5-7	8 H - 8 H	4	3,03 ± 0,62	20
7-8	"	4	1,98 ± 0,73	36
8-9	"	4	1,67 ± 0,34	20
9-10	"	4	3,55 ± 0,60	17
10-11	"	4	1,15 ± 0,19	16
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	4	1,14 ± 0,20	17
11-12	"	4	4,47 ± 1,42	31
12-13	"	4	3,55 ± 0,91	25
13-14	"	4	3,3 ± 0,52	15

TABLEAU N° 10BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET À LA STATION D'ÉPURATION DU SITE VIII

$CE_{50-5\ mn}$ ou taux de dilution de l'effluent entraînant 50 % de diminution de luminescence bactérienne après 10 minutes de contact

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△ % APRÈS 5 MN
DATE	HEURE	N = 2 M
4-5	20 H - 8 H	- 9
7-8	8 H - 8 H	- 15
8-9	"	- 3
9-10	"	7
10-11	"	18
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	21,5
11-12	"	- 13
12-13	"	- 3
13-14	"	- 8

TABLEAU N° 11BIS : TOXICITÉ DES EAUX DE REJET À LA STATION STEP D DU CENTRE IX

△% ou pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 % (nombre d'essais = 2)

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△% APRÈS 5 MN N = 3	
DATE	HEURE	M ± S	CV (EN %)
4	9 H 30 - 14 H	36 7	19
4-5	20 H - 8 H	43,5 ± 5,0	12
7-8	8 H - 8 H	18 ± 12	66
8-9	"	27,6 ± 12,3	44
9-10	"	42,5 ± 6,0	14
10-11	"	28 ± 10	36
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	37,3 ± 3,8	10
11-12	"	29,5 ± 10,8	37
12-13	"	13 ± 6	46
13-14	"	21,8 ± 11,5	52

TABLEAU N° 12BIS : TOXICITÉ DES EAUX DU CANAL REJETS INDUSTRIELS (CRIR)

△% ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après un temps de contact de 5 minutes avec les eaux diluées à 45 %

(nombre d'essais = 3)

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△% APRÈS 5 MN (N = 2) STEP D						
		COLLECTEUR CRD 1		COLLECTEUR CRD 2		COLLECTEUR CRD 3		SORTIE STATION
DATE	HEURE	M	CV%	M	CV%	M	CV%	M
4-5	20H - 8H	86		* 40 ± 7	17	43		4
5-6	8H - 8H	73,5		30		31		23
7-8	"	* 74 ±21	28	43		45		18
8-9	"	65		40		46		14
9-10	"	68		28		40		6
10-11	"	61,5		41		36		3
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	52		42		40		14
13-14	"	55,5		32		24		9
8-9	"	SECTEUR V △ % - 5 MN = 44 % SECTEUR M △ % - 5 MN = 54 %						

TABLEAU N° 13BIS : TOXICITÉ DES EFFLUENTS TRAITÉS À LA STATION D'ÉPURATION STEP D

△% - 5 mn ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après 5 minutes de contact avec les effluents dilués à 45 %

* n = 3

Prélèvement Juin 1982		CE_{50} après 5 mn Rejets STEP I					
		Ligne Nord (LNS)			Ligne Sud (LSS)		
Date	Heure	N	M ± S (%)	CV (%)	N	M ± S (%)	CV(%)
4-5	20H - 8H				3	2,465 ±0,465	19
5-7	8H - 8H				3	2,715 ±0,765	28
7-8	"				3	3,065 ±0,605	20
8-9	"				3	1,915 ±0,190	10
9-10	"				4	4,315 ± 1,17	27
10-11	20H-8H L.N. 8H-8H L.S.	3	0,285 ±0,065	23	3	1,34 ±0,26	19
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	20H-8H L.N. 8H-8H L.S.	3	0,34 ±0,055	16	3	1,625 ±0,150	9
11-12	8H - 8H	3	0,245 ±0,020	8	3	2,535 ±0,320	13
12-13	"	4	0,075 ±0,015	20	3	2,32 ± 1,425	61
13-14	"	3	2,6 ±0,775	30	3	1,935 ± 0,225	12

Tableau n° 14bis : Toxicité des eaux des lignes Nord et Sud conduisant à la station d'épuration STEP I

$CE_{50-5\ mn}$ ou taux de dilution des effluents entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 5 minutes de contact

Prélèvement Juin 1982		CE 50 après 5 mn STEP I				
		Sortie stockeur (PT)			Sortie station (FT)	
Date	Heure	N	M ± S %		N	M (%)
4-5	20H - 8H	3	9,60 ± 0,95	10		**
5-7	8H - 8H	3	13,83 ±3,26	24		**
7-8	"	3	11,53 ±1,60	14		**
8-9	"	3	11,65 ±2,03	17		**
9-10	"	3	10,85 ±1,60	15		**
10-11	"	3	7,48 ± 2,20	29		**
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	3	7,56 ± 1,40	18		**
11-12	"	3	4,70 ± 0,98	21		**
12-13	"	4	4,60 ± 0,70	15	2	16 %
13-14	"	3	4,43 ± 0,94	21	2	34 %

Tableau n° 15bis : Toxicité des eaux traitées à la station d'épuration STEP I

$CE_{50-5\ mn}$ ou taux de dilution des eaux entraînant 50 % de diminution de la luminescence bactérienne après 5 minutes de contact

** CE_{50} indéterminée car eau peu toxique (voir tableau n° 16 = △ à 45 %)

PRÉLÈVEMENT JUIN 1982		△% APRÈS 5 MN STEP I	
DATE	HEURE	SORTIE STOCKEUR (N=3) M	SORTIE STATION M
4-5	20 H - 8 H	93	35
5-7	8 H - 8 H	80	14,5
7-8	"	88	24
8-9	"	93	19
9-10	"	91	32
10-11	"	97	45
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	97	28
11-12	"	100	39
12-13	"	99	62
13-14	"	100	57

TABLEAU N° 16BIS : TOXICITÉ DES EAUX TRAITÉES À LA STATION D'ÉPURATION STEP I

△%-5 mn ou pourcentage de diminution de la luminescence bactérienne après 5 minutes de contact avec les effluents dilués à 45 %

Date du prélèvement \ Site	Centre I			Centre III		
	Δ% 5 mn à dilution égale des rejets		Tox.rejet Step / Tox.rej.rivière	Δ% 5 mn à dilution égale des rejets		Tox.rejet Step / Tox.rej.riviere
	rivière	Step I		rivière	Step I	
10-11	33	89	2,7	38	13	0,34
10-11 eau non décantée	33	78	2,4	50	10	0,20
11-12	33	99,5	3,0	20	28	1,4
12-13	43	89	2,0			
13-14	37	1	0,027			

Tableau n° 18bis : Comparaison de la toxicité des rejets rivière et STEP des Centres I et III : rejets testés à dilution équivalente, compte-tenu du rapport de flux respectif des effluents rivière et STEP I

	CENTRE I		
	$R_1 = \frac{\text{FLUX RIVIÈRE}}{\text{FLUX STEP}}$	$\frac{\text{TOX. EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE À DILUTION ÉGALE}} = K_1$	$\frac{\text{TOX. RÉELLE EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE}}$ $R_1 \times K_1$
10-11	185	2,70	500
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	185	2,4	444
11-12	122	3,0	366
12-13	130	2,0	260
13-14	187	0,027	5

TABLEAU N° 19BIS : TOXICITÉ COMPARÉE DES REJETS RIVIÈRE ET STEP DU CENTRE I

(d'après Δ% évalué après 5 mn)

Site / Date du prélèvement	Centre II		
	Δ % 5 mn à dilution égale des rejets		Tox. rejet Step / Tox.rej.rivière
	rivière	Step	
10-11	40	40,6	1,0
10-11 eau non décantée	46	61	1,3
11-12	33	100	> 3

Tableau n° 20bis : Comparaison de la toxicité des rejets rivière et STEP du Centre II : rejets testés à dilution équivalente compte-tenu du pport de flux respectif des effluents rivière et station d'épuration STEP I

Date du prélèvement	$R = \frac{\text{flux ef. rivière}}{\text{flux Step}}$	CE_{50} rivière	Centre II CE_{50} Step	CE_{50} Step corrigée $= CE_{50} \times R$	$\frac{CE_{50}\ \text{rivière}}{CE_{50}\ \text{Step cor.}}$
10-11	15,35	12,48 %	1,34	20,56	0,60
10-11 eau non décantée	"	11,27	0,65	9,97	1,13
11-12	10,26	32,9	0,36	3,69	8,9

Tableau n° 21bis : Comparaison à l'aide des CE_{50} de la toxicité des rejets rivière et STEP I du Centre II

	CENTRE III		
	$R_2 = \frac{\text{FLUX RIVIÈRE}}{\text{FLUX STEP}}$	$\frac{\text{TOX. EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE À DILUTION ÉGALE}} = K_2$	$\frac{\text{TOX. RÉELLE EAUX STEP}}{\text{TOX. EAUX RIVIÈRE}}$ $R_2 \times K_2$
10-11	105	0,34	35
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	105	0,20	21
11-12	91	1,4	127

TABLEAU N° 22BIS : TOXICITÉ COMPARÉE DES REJETS RIVIÈRE ET STEP DU CENTRE III

(d'après Δ% évalué après 5 mn)

Prélèvement Juin 1982		N° du réactif bactérien	Test effectué	$CE_{50-5\ mn}$ (en %)	
Date	Heure			X	M
4-5	20 h - 8 h	C	Juill.	13	9,5
		D	-	6	
		G	Sept.	43,5	
		H	Nov.	>55(*)	
5-6	8 h - 8 h	A	Juill.	3,3	3,3
		G	Sept.	40,5	39,25
		H	Nov.	38	
7-8	"	B	Juill.	40	25,33
		E	-	10	
		F	-	26	
		G	Sept.	23,5	22,75
		H	Nov.	22	
8-9	"	C	Juill.	13,5	9,62
		D	-	5,75	
		G	Sept.	41,5	
		H	Nov.	55(*)	
9-10	"	C	Juill.	11,5	8,35
		D	-	5,2	
		G	Sept.	32	
		H	Nov.	> 55	
10-11	"	A	Juill.	18,5	22
		D	-	25,5	
		G	Sept.	50	40
		H	Nov.	30	
10-11 EAU NON DÉCANTÉE	"	A	Juill.	23	29,5
		E	-	36	
		G	Sept.	45,5	42,25
		H	Nov.	39	
13-14	"	A	Juill.	17,5	28,25
		D	-	39	
		G	Sept.	46	38,5
		H	Nov.	31	

Tableau n° 24bis : Evolution de la toxicité des eaux du collecteur CRD1 dans le temps

$CE_{50-5\ mn}$ obtenues avec les différents réactifs bactériens

* CE_{50} extrapolée