

UNIVERSITE DE METZ



n° 9228

CENTRE DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

THESE D'UNIVERSITE

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

Examineurs : Monsieur BLOCK J.C., Professeur

Madame SCHWARTZBROD J., Professeur

Monsieur WEINGERTNER, Ingenieur

Monsieur FERARD J.F., Assistant

S O M M A I R E

	<u>page</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
I - <u>GENERALITES</u>	
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 - <u>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	9
III - <u>DETERMINATION DE LA TOXICITE D'EFFLUENTS PAR LE TEST MICROTOX</u>	
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 \uparrow	24
IV - <u>APPLICATION DU TEST MICROTOX A UN SCREENING DE TOXICITE SUR EFFLUENTS</u>	
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

	<u>page</u>
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

	<u>page</u>
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 - <u>DISCUSSION</u>	
. 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
<u>CONCLUSION</u>	97
<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	99
<u>ANNEXE 1</u>	102
<u>ANNEXE 2</u>	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.

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 $CE_{50 - 10 \text{ mn}}$ 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 $CE_{50 - 10 \text{ mn}}$ 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

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.