



## Évaluation écotoxicologique des sites pollués : Aperçu des méthodes disponibles pour l'évaluation des atteintes aux écosystèmes aquatiques

Rapport d'expert sur mandat de l'Office fédéral de l'environnement OFEV

Rapport final – 4 mars 2025



## Mentions légales

### Éditeur

Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, 1015 Lausanne & 8600 Dübendorf

### Sur mandat de

Office fédéral de l'environnement OFEV

### Auteurs

Rébecca Beauvais, Carmen Casado,  
Cornelia Kienle, Etienne Vermeirssen, Centre suisse d'écotoxicologie appliquée  
Benoît Ferrari

### Contact

Rébecca Beauvais, [rebecca.beauvais@centrecotox.ch](mailto:rebecca.beauvais@centrecotox.ch)

### Citation

Beauvais, R., C. Casado, C. Kienle, E. Vermeirssen et B. Ferrari. Évaluation écotoxicologique des sites pollués : Aperçu des méthodes disponibles pour l'évaluation des atteintes aux écosystèmes aquatiques. Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, Lausanne & Dübendorf.

### Clause de non-responsabilité

Ce rapport a été rédigé à la demande de l'OFEV. Le contractant est seul responsable de son contenu.

## Photos de couverture : Centre Ecotox

Oekotoxzentrum | Eawag | Überlandstrasse 133 | 8600 Dübendorf | Schweiz  
T +41 (0)58 765 55 62 | [info@oekotoxzentrum.ch](mailto:info@oekotoxzentrum.ch) | [www.oekotoxzentrum.ch](http://www.oekotoxzentrum.ch)

Centre Ecotox | EPFL-ENAC-IIE-GE | Station 2 | CH-1015 Lausanne | Suisse  
T +41 (0)21 693 62 58 | [info@centrecotox.ch](mailto:info@centrecotox.ch) | [www.centrecotox.ch](http://www.centrecotox.ch)

## Résumé

En Suisse, le recours à des tests écotoxicologiques (bioessais) pour l'évaluation des atteintes à la qualité des eaux ou des sédiments ne sont pas prescrits par la législation, que ce soit pour la protection des eaux de surface ou dans le cadre de l'investigation des sites pollués. Pour ces derniers, selon l'ordonnance sur l'assainissement des sites pollués (OSites), l'évaluation du danger des substances polluantes est réalisée à l'aide d'analyses chimiques pour chaque polluant individuel. Les concentrations mesurées sont comparées à des valeurs limites établies sur la base de données de toxicologie humaine. Dans le cadre de l'estimation des atteintes aux écosystèmes, les tests écotoxicologiques peuvent toutefois constituer une méthode complémentaire pertinente. Ces derniers avaient été proposés dans une aide à l'exécution, désormais plus en vigueur, pour l'évaluation des lixiviats de sites pollués (par ex. sites contaminés et décharges). Cette aide à l'exécution recommandait l'utilisation d'une série de tests écotoxicologiques (sur des bactéries luminescentes, des algues et des crustacés) et, dans certains cas, des études complémentaires de génotoxicité ou de toxicité chronique. Malgré le retrait de l'aide à l'exécution, des tests écotoxicologiques ont continué et continuent d'être appliqués régulièrement dans des projets mandatés par des autorités cantonales ou communales. Les bioessais peuvent se montrer très intéressants, puisqu'ils tiennent compte de la mobilité, du mélange et de la biodisponibilité des substances chimiques et renseignent sur la dangerosité de ces dernières sur les organismes aquatiques. Les bioessais avec les sédiments peuvent aussi se révéler pertinents dans le contexte des sites pollués dans les eaux de surface. Le présent rapport constitue une vue d'ensemble des méthodes écotoxicologiques qui peuvent être utilisées pour évaluer des sites contaminés afin de déterminer si et comment elles peuvent être envisagées pour une nouvelle aide à l'exécution relative à l'OSites.



## Table des matières

Résumé .....	i
1 Introduction.....	1
2 Évaluation écotoxicologique des lixiviats et des matrices aqueuses .....	4
2.1 Aide à l'exécution pour l'application de tests écotoxicologiques sur lixiviats en Suisse ...	4
2.2 Quelques exemples d'études d'évaluation écotoxicologique des lixiviats en Suisse .....	5
2.3 Surveillance de la qualité des eaux en Suisse .....	6
2.4 Aperçu de l'application des bioessais aquatiques en Europe.....	8
3 Évaluation écotoxicologique des sédiments pollués .....	14
3.1 Surveillance de la qualité des sédiments en Suisse.....	14
3.2 Aperçu des concepts de gestion des sédiments pollués en Amérique du Nord et en Europe.....	15
3.3 Exemples de recommandations nationales sur les tests écotoxicologiques sur les sédiments en Europe .....	17
3.3.1 Suède .....	17
3.3.2 Norvège .....	17
3.3.3 Belgique.....	18
3.3.4 Pays-Bas .....	19
3.3.5 Allemagne.....	19
3.3.6 France .....	19
4 Conclusions sur le potentiel de l'application des tests écotoxicologiques.....	23
5 Références bibliographiques.....	26
6 Annexe .....	33



# 1 Introduction

À ce jour, la Suisse compte environ 38'000 sites pollués, dont environ 4'000 sites contaminés, c'est-à-dire des sites risquant de représenter un danger pour l'homme et l'environnement, et qui, de ce fait, nécessitent un assainissement à plus ou moins long terme. Les sites pollués comprennent notamment les décharges, les sites d'exploitation, les installations de tir ou les lieux d'accident. Parmi ces 38'000 sites, environ 8'000 se situent à proximité immédiate d'une eau de surface (OFEV 2020). Il s'agit de sites pollués au-dessus (env. 1'200 décharges), à côté (env. 6'400 sites) ou en dessous d'un cours d'eau (env. 400 sites). Ces sites pollués peuvent porter atteinte aux écosystèmes aquatiques, que ce soit via l'eau de surface et/ou les sédiments. Les sites pollués peuvent présenter des mélanges de polluants très hétérogènes, rendant l'interprétation des analyses chimiques parfois complexe, alors que les analyses se limitent à un nombre limité de substances individuelles. Malgré la constante amélioration des méthodes chimiques et le recours possible à des analyses semi-quantitatives par screening, la biodisponibilité et les effets de mélange (effets additifs, antagonistes ou synergétiques) ne peuvent être évalués que de manière limitée par ces approches. De plus, des substances non analysées peuvent être à l'origine d'effets sur l'environnement liés à un site pollué. Enfin, les valeurs d'assainissement (valeurs de concentration) et d'évaluation du danger disponibles dans l'ordonnance sur l'assainissement des sites pollués (Ordonnance sur les sites contaminés, OSites, RS 814.680) reposent sur la toxicologie humaine et ne permettent pas d'évaluer le risque des atteintes sur l'environnement.

Les tests écotoxicologiques ou bioessais sont des méthodes utilisant des cellules, des organismes ou des communautés vivants pour évaluer les effets et la dangerosité des substances chimiques auxquelles ils sont exposés seules ou en mélange, telles qu'elles sont présentes dans les échantillons environnementaux. Ils font partie de ce que l'on appelle les « méthodes basées sur les effets » (« effect-based methods ou EBMs ») qui regroupent les bioessais, les biomarqueurs et les bioindicateurs (Connon et al. 2012, Wernersson et al. 2014). Les bioessais sont classés en fonction du niveau d'organisation biologique (des molécules à l'écosystème), de la durée (à court terme pour la toxicité dite aiguë ou à long terme pour la toxicité dite chronique) et du mode d'exposition (en laboratoire ou sur le terrain – *in situ*). Le recours à ces méthodes biologiques peut se montrer très intéressant, puisqu'elles tiennent compte de la mobilité et la biodisponibilité des substances chimiques et renseignent sur la dangerosité de ces dernières sur les organismes aquatiques et benthiques. En Suisse, aucun bioessai n'est prescrit dans la législation, mais les tests et/ou valeurs seuils écotoxicologiques sont mentionnés dans l'OSites<sup>1</sup> et dans les aides à l'exécution « Cahier des charges pour l'investigation technique des sites pollués »<sup>2</sup> (OFEFP 2000), « Exigences applicables au déversement du lixiviat de décharge »<sup>3</sup> (Hermanns-Stengele & Moser 2012) et « Sites pollués et eaux de surface »<sup>4</sup> (OFEV 2020).

L'ordonnance sur les sites contaminés vise à garantir dans le sens de la loi sur la protection de l'environnement (LPE, RS 814.01) que « les sites pollués seront assainis s'ils causent des atteintes nuisibles ou incommodes à l'environnement, ou s'il existe un danger concret que de telles atteintes apparaissent ». Selon l'ordonnance sur la protection des eaux (OEaux, RS 814.201 ; art. 1), les eaux superficielles et souterraines doivent être protégées contre les atteintes nuisibles et une utilisation durable des eaux doit être rendue possible. Parmi les objectifs écologiques définis à l'annexe 1 (art. 1(3)), il est notamment stipulé que « la qualité de l'eau doit être telle que [...] d'autres substances pouvant polluer les eaux et y aboutir par suite de l'activité humaine [...] n'ait pas d'effet néfaste sur les biocénoses, ni sur l'utilisation des eaux ». Une aide à

---

<sup>1</sup> Dans l'annexe 1 de l'OSites, al. 5 : « Il est possible de renoncer à une analyse du lixiviat selon l'al. 2 lorsque l'on peut constater, sur la base d'autres indications telles que [...] les analyses écotoxicologiques [...] que la valeur de concentration a été dépassée ou non ».

<sup>2</sup> p. 21 dans le « Programme d'analyse ».

<sup>3</sup> p. 20-21 « Procéder à l'examen écotoxicologique du lixiviat déversé et, si le résultat l'exige, durcir ou compléter les exigences. On pourra renoncer à cet examen si la nature de la décharge et du lixiviat permettent d'exclure la présence de substances organiques nocives au plan écotoxicologique. »

<sup>4</sup> Concernant les sites pollués dans une eau, p. 55 « Outre les investigations sur les déchets et sur les sédiments pollués, les investigations servant à estimer la mise en danger (par ex. investigations écotoxicologiques) peuvent elles aussi bénéficier d'une indemnisation pour autant qu'elles soient nécessaires. »

l'exécution publiée en 1999 par l'Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (OFEFP, aujourd'hui Office fédéral de l'environnement OFEV) (« Application de tests écotoxicologiques à des lixiviats de sites pollués », OFEFP 1999), a été utilisée par certains cantons dans les années 2000 afin d'évaluer le potentiel écotoxicologique des sites pollués, notamment des décharges, via la qualité des eaux de percolation, souterraines ou de surface. Ce document définissait les modalités d'intégration de l'approche écotoxicologique dans le processus général fixé par l'OSites à chaque étape des investigations, de la surveillance et de l'assainissement des sites pollués. Aujourd'hui cette aide à l'exécution n'est plus en vigueur mais l'intérêt d'utiliser des approches écotoxicologiques dans l'évaluation des atteintes à l'environnement des sites pollués subsiste et s'est accentué ces dernières années.

Plus récemment, en 2020, l'OFEV a publié une aide à l'exécution consacrée aux sites pollués à proximité des eaux de surface (« Sites pollués et eaux de surface », OFEV 2020). Cette publication aide à déterminer concrètement quels emplacements pollués se trouvant dans, au-dessus, ou à proximité d'une eau de surface constituent des sites pollués au sens de l'OSites et lesquels n'ont pas besoin d'être évalués ni assainis en vertu de ladite ordonnance. À cette fin, elle classe les sites pollués à proximité d'eaux de surface en trois catégories : (i) sites pollués au bord d'une eau, (ii) sites pollués au-dessus d'une eau et (iii) sites pollués dans une eau. Pour chacune de ces catégories, l'aide à l'exécution indique si et comment les sites doivent être examinés, évalués et éventuellement assainis conformément aux dispositions de l'OSites.

Les eaux de surface intégrant l'eau et les sédiments, ces derniers peuvent aussi contribuer au danger que représente un site contaminé proche des eaux de surface. Ainsi, les investigations destinées à établir si un site pollué peut causer des atteintes nuisibles ou incommodes à l'eau de surface pourront inclure à la fois les phases aqueuses - par ex. les lixiviats<sup>5</sup>, les eaux de percolation<sup>6</sup>, ou les eaux superficielles - et les sédiments. Alors que l'aide à l'exécution « Sites pollués et eaux de surface » reconnaît la nécessité d'évaluations écotoxicologiques, aucune disposition détaillée ne précise si l'évaluation basée sur une approche chimique (et la comparaison avec les critères de qualité environnementale basées sur les effets écotoxicologiques) est suffisante ou si des outils supplémentaires, tels que des bioessais, sont nécessaires pour réduire l'incertitude de l'évaluation et de la prise de décision, que ce soit pour les contaminants dissous dans les phases aqueuses ou pour les sédiments contaminés.

Le but du présent rapport est ainsi de donner un aperçu et une mise à jour des outils écotoxicologiques disponibles dans le cadre de l'évaluation des atteintes à l'environnement des sites pollués en lien avec la qualité des eaux de surface. L'objectif principal est de déterminer, si et quels tests écotoxicologiques peuvent être utiles pour :

- i. évaluer la toxicité d'un site pollué et le danger qu'il représente pour les écosystèmes,
- ii. évaluer le besoin d'assainissement d'un site pollué,
- iii. surveiller l'évolution dans le temps des effets toxiques d'une pollution sur un écosystème,
- iv. déterminer le niveau de toxicité en aval d'un site pollué par rapport à l'amont, et si la différence est pertinente pour la prise de mesures sur le site pollué,
- v. définir les buts d'assainissement, et
- vi. évaluer l'efficacité des mesures d'assainissement.

Afin d'atteindre cet objectif une revue de la littérature et des méthodes appliquées par d'autres pays a été réalisée. La synthèse de cette revue devrait permettre d'identifier les cas où il serait pertinent de faire des tests écotoxicologiques, et à quelle(s) étape(s) des investigations.

En raison des ressources limitées consacrées au projet, l'analyse de la littérature s'est concentrée sur les approches et cadres réglementaires nationaux et internationaux, tandis que la littérature scientifique n'a pas fait l'objet d'un examen exhaustif et que seuls quelques exemples

---

<sup>5</sup> « Échantillon liquide résultant d'un passage de l'eau au travers de matériaux présents sur le site au moyen d'un essai de lixiviation sur colonne effectué au laboratoire » (OFEFP 1999).

<sup>6</sup> « Eaux s'étant chargées de polluants en percolant au travers d'un site pollué, peuvent être assimilées aux lixiviats » (OFEFP 1999).

sont fournis. Néanmoins, il constitue une base de connaissances qui permettra par la suite de traiter plus en détail des limites, des avantages et des désavantages des différents tests, et de proposer un cadre d'interprétation au regard des critères de qualité de l'eau et des sédiments et des valeurs OSites. Le but étant d'envisager les tests écotoxicologiques comme une aide à la décision en complément de l'approche développée dans l'OSites basée sur des analyses chimiques.

En fonction des pratiques actuelles et des documents d'orientation disponibles, le présent rapport est organisé comme suit : dans une première partie, des approches écotoxicologiques concernant des lixiviats et des phases aqueuses de sites pollués et des déchets sont expliquées, ainsi que les outils disponibles issus de la biosurveillance. Dans une deuxième partie, l'étude de la qualité des sédiments en Suisse est présentée, suivie par des concepts de gestion des sédiments contaminés en Amérique du Nord et en Europe. Enfin, les conclusions proposent des approches et des tests écotoxicologiques à mettre en œuvre lors des différentes phases du traitement des sites pollués, ainsi que des travaux futurs à envisager.

## 2 Évaluation écotoxicologique des lixiviats et des matrices aqueuses

Au sens de l'OSites, différents types d'échantillons aqueux peuvent être prélevés sur un site pollué. On distingue les émissions - c'est-à-dire les eaux de percolation, les lixiviats, les écoulements de surface ou les eaux d'accumulation provenant d'un site pollué et parvenant à l'environnement - et les immissions, c'est-à-dire des échantillons reflétant les atteintes aux biens à protéger. Dans ce dernier cas, il s'agit d'évaluer la qualité des eaux de surface recevant des émissions de sites contaminés.

### 2.1 Aide à l'exécution pour l'application de tests écotoxicologiques sur lixiviats en Suisse

Publié en 1999, un an après l'entrée en vigueur de l'ordonnance sur les sites contaminés (OSites), une aide à l'exécution intitulée « Application de tests écotoxicologiques à des lixiviats de sites pollués » avait pour but d'aider à l'estimation de la mise en danger des écosystèmes aquatiques liée aux sites contaminés (OFEFP 1999). L'aide à l'exécution fut rédigé par Kristen Becker van Slooten, Dominique Rossel et Joseph Tarradellas, chercheurs dans le groupe Gestion des écosystèmes – écotoxicologie à l'Institut de l'aménagement des terres et des eaux de l'EPF Lausanne, avec l'accompagnement des cantons de Berne, Fribourg, Genève, Jura, Tessin, Valais et Vaud, de l'OFEFP et de bureaux d'études. La production de ce document avait été supportée par l'OFEFP et la « Commission intercantonale romande pour le traitement des déchets » (CIRTD).

L'objectif était de recommander des outils pour une « application aisée, objective et équitable de l'ordonnance sur les sites contaminés (OSites) » afin d'évaluer les atteintes à l'environnement et la mise en danger. L'approche proposée et le choix des bioessais s'étaient basés sur des expériences passées sur plusieurs sites pollués en Suisse (Arrizabalaga 1997) ainsi que d'études de pays limitrophes (Scheibel et al. 1991, Clément 1994, Clément et al. 1996, Clément et al. 1997). L'écotoxicologie est alors mise en avant pour plusieurs points positifs par rapport aux analyses chimiques seules, à savoir la complémentarité aux analyses chimiques : effets des mélanges de plusieurs substances, substances inconnues, analyses coûteuses et/ou complexes, et l'intégration de la biodisponibilité, mobilité et comportement des substances. L'optimisation des coûts était également mise en avant dans le cadre de l'assainissement des sites contaminés. Selon l'aide à l'exécution, le recours à des tests écotoxicologiques promettait d'obtenir un niveau de protection adéquat, en évitant toute dépense non justifiée. Une nouvelle étude, plus approfondie, sur les coûts des approches s'avèrerait cependant nécessaire, du fait de l'évolution rapide des techniques (bio-)analytiques.

La batterie de tests écotoxicologiques *in vivo* proposée dans l'aide à l'exécution comprenait un test d'inhibition de la bioluminescence d'une bactérie (*Aliivibrio fischeri*) (ISO 2007a), un test d'inhibition de la croissance d'une algue verte (*Raphidocelis subcapitata*) (ISO 2012a), et un test de mortalité sur un crustacé (*Daphnia magna*) (ISO 2012b). Ces tests sont aujourd'hui tous standardisés et encore utilisés. La recommandation de cette batterie était accompagnée d'une suggestion de recourir à d'autres tests, en particulier si aucun effet n'était observé alors qu'ils étaient attendus (substances toxiques présentes). « Une certaine liberté est laissée pour le choix des tests ». Selon les résultats des tests, les échantillons étaient classés en « non toxique », « moyennement toxique » ou « fortement toxique » (OFEFP 1999).

L'examen écotoxicologique reste recommandé aujourd'hui dans le cas de déversement de lixiviats de décharge dans l'aide à l'exécution « Exigences applicables au déversement du lixiviat de décharge » publié par l'OFEV en 2012 (Hermanns-Stengele & Moser 2012). Il y est constaté que l'examen écotoxicologique « a pour but de montrer si l'état du cours d'eau requiert une adaptation des exigences relatives au déversement de lixiviats de décharge ». Aucun bioessai ni procédure concrète n'est cependant proposé, car « la mise au point des procédures de test n'est de

loin pas achevée ». Il est ainsi consigné de faire appel à des spécialistes au fait des derniers développements, comme le Centre Ecotox. Aussi, il est précisé que « lorsqu'on constate qu'un lixiviat de décharge exerce des effets écotoxicologiques négatifs, il faut tâcher de déterminer les substances en cause. » (Hermanns-Stengele & Moser 2012).

## 2.2 Quelques exemples d'études d'évaluation écotoxicologique des lixiviats en Suisse

Depuis la publication de l'aide à l'exécution en 1999, plusieurs études écotoxicologiques sur les lixiviats ont été menées en Suisse, incluant ces tests et des tests supplémentaires, qui ont été ajoutés selon l'avancement des développements dans le domaine (toxicité chronique, modes d'action spécifiques). Quelques exemples sont listés ci-dessous :

- En 2001 et 2003, la qualité des eaux percolant à travers d'une décharge du canton de Vaud a été étudiée du point de vue physico-chimique et écotoxicologique (Santiago 2004). La batterie des trois tests écotoxicologiques de l'aide à l'exécution été appliquée sur les lixiviats (amont et aval de la décharge) et sur des échantillons d'eau souterraine prélevés dans des piézomètres situés sous la décharge et dans l'aquifère. Une toxicité chronique importante des eaux souterraines avait été décelée selon le test sur les algues vertes. Selon le système de classification de l'aide à l'exécution, les eaux de l'aquifère local étaient donc considérées comme fortement toxiques, ce qui corroborait globalement bien avec les informations fournies par les analyses chimiques, notamment au regard des concentrations en zinc et composés organiques halogénés adsorbables (AOX). Le potentiel écotoxicologique des eaux de l'aquifère, équivalent au taux de dilution qui serait nécessaire après immission afin de respecter les seuils limites dans le milieu récepteur, avait été le plus élevé au regard des bioessais. À notre connaissance, aucune étude écotoxicologique n'avait été menée dans le ruisseau en aval de la décharge, bien que cela aurait pu renseigner sur l'impact écologique du site pollué sur les eaux de surface en aval.
- En 2009, un rapport du Centre Ecotox, avec Soluval Santiago, présentait une évaluation écotoxicologique des eaux de lixiviat d'une décharge avec une batterie nouvelle : un test de toxicité dit « combiné » avec l'algue verte *R. subcapitata* (inhibition de la photosynthèse et de la croissance, en cours de normalisation), un test de toxicité aiguë avec un amphipode (*Gammarus fossarum*) ainsi qu'un test chronique d'inhibition de la reproduction avec une autre espèce de daphnie (*Ceriodaphnia dubia*) (ISO 2008a) (Kienle et al. 2009). Aucun effet toxique n'avait été observé, démontrant qu'aucune atteinte sur l'écosystème aquatique n'était attendue.
- En 2010 le potentiel écotoxicologique des lixiviats de plusieurs décharges a été évalué selon les trois tests de l'aide à l'exécution avec les bactéries luminescentes, les algues et les daphnies (résultats non publiés). Les résultats des tests écotoxicologiques ont montré une toxicité dans les échantillons non dilués, mais celle-ci n'était déjà plus mesurable à de faibles dilutions. L'une des conclusions était que ces résultats devaient toutefois être interprétés en termes d'exposition chronique. Il était recommandé d'appliquer des bioessais spécifiques et chroniques, mais que ceux-ci seraient appréhendés uniquement comme résultats complémentaires aux analyses chimiques.
- En 2015, le potentiel écotoxicologique des lixiviats de trois décharges a été évalué selon le test d'inhibition de la bioluminescence sur la bactérie *A. fischeri*, le test algue combiné, le test daphnie, et des tests à mécanismes d'action spécifiques : la mesure d'activité oestrogénique dans le « Yeast Estrogen Screen » (YES) (ISO 2018a), d'activité androgénique dans le « Yeast Androgen Screen » (YAS) et de mutagénicité dans le test de fluctuation d'Ames (ISO 2005a). Le Centre Ecotox avait réalisé le test algue combiné qui avait montré l'absence d'effet écotoxicologique.
- En 2023 une étude menée par le bureau d'experts bafob GmbH et le Centre Ecotox, mandatée par l'OFEV s'est penchée sur les perturbateurs endocriniens présents dans les plastiques

liquides utilisés dans les produits de construction et qui finissent par se retrouver dans les décharges (Dilmi et al. 2023). Plusieurs bioessais utilisant des bactéries luminescentes, des algues et des daphnies ont été utilisés pour l'évaluation écotoxicologique, en plus de tests *in vitro* spécifiques tels que le test de génotoxicité umu (ISO 2000a) et l'activité œstrogénique (ER $\alpha$ -CALUX<sup>®7</sup>) (ISO 2018b, OECD 2021). L'évaluation a montré une forte toxicité des lixiviats et des résultats préoccupants en ce qui concerne l'élimination des déchets de construction contenant des résines époxy dans les décharges de type B.

- En cours au Centre Ecotox, un projet sur les eaux claires et mixtes d'une décharge teste de nouvelles méthodes. En effet, un panel de huit tests *in vitro* CALUX<sup>®</sup> a été mis en place pour évaluer la toxicité cellulaire, le métabolisme des polluants, le stress oxydatif, l'activité œstrogénique et anti-androgénique, la génotoxicité et la présence de substances per- et polyfluoroalkylées (PFAS) (modification du métabolisme thyroïdien) ou d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (se liant spécifiquement au récepteur d'aryl hydrocarbure, AhR), sur des cellules humaines (van der Burg et al. 2013). De plus, un test sur embryons de poisson (développement et survie) (OECD 2013) a été ajouté.

En résumé, la batterie de tests écotoxicologiques recommandée dans l'aide à l'exécution de 1999 a peu à peu été remplacée ou complétée par des tests de toxicité chronique permettant d'étudier les effets à plus long terme d'une contamination (par ex. test de reproduction avec *C. dubia*), et de plus en plus par des tests à mécanismes d'action spécifiques (par ex. le test de génotoxicité umu). Ces tests supplémentaires étaient cependant déjà listés dans l'Annexe 3 de l'aide à l'exécution de 1999. En outre, les bioessais *in vitro* mentionnés ci-dessus, tels que les tests CALUX<sup>®</sup> pour la détection de différents effets spécifiques et le test de l'embryon de poisson, permettent de détecter d'autres groupes de substances et effets importants.

## 2.3 Surveillance de la qualité des eaux en Suisse

En Suisse, les approches écotoxicologiques sur les échantillons liquides de l'aide à l'exécution de 1999 ont également été appliquées sur des échantillons environnementaux dès le début des années 2000, notamment au sein d'un groupe de travail de la Commission internationale de protection des eaux du Léman qui a publié un guide en 2002 (Santiago et al. 2002). Plus tard, dans la convention OSPAR (OSPAR 1992), dont la Suisse fait partie, le WEA pour « whole effluent assessment » ou évaluation globale des effluents a été développé (OSPAR 2007).

En 2015 une vue d'ensemble des bioessais aquatiques disponibles pour évaluer la qualité de l'eau a été élaborée au Centre Ecotox et publiée dans un rapport d'experts (Kienle et al. 2015a) avec l'objectif d'intégrer l'écotoxicologie dans le système modulaire gradué (<https://modul-stufen-konzept.ch/fr/modul-stufen-konzept/>). Afin de sélectionner des bioessais appropriés, une recherche bibliographique, une enquête auprès d'experts et un atelier d'experts ont été menés. L'objectif de ces travaux était d'identifier les mécanismes d'action biologiques les plus pertinents des polluants environnementaux et les bioessais permettant de mesurer ces effets. Pour l'évaluation des bioessais, plusieurs critères ont été définis, comme : (i) l'applicabilité aux échantillons environnementaux, (ii) la sensibilité, (iii) la robustesse, (iv) le degré de validation / standardisation, (v) la rentabilité et bonne applicabilité de routine, (vi) l'applicabilité dans les laboratoires de protection des eaux et les laboratoires privés. En outre, il a été tenu compte de l'interprétabilité (par ex., le test peut-il trancher entre des conditions acceptables et inacceptables d'une manière scientifique et juridiquement valable ?), la pertinence (par ex., peut-on établir un lien avec des effets négatifs à d'autres niveaux d'organisation biologique ?) et les propriétés de prédiction (par ex., le test permet-il de tirer des conclusions sur les effets avant l'apparition de lésions graves (système d'alerte précoce) ?). Par la suite, une évaluation sommaire de la qualité de l'eau dans les cours d'eau pollués par des effluents d'épuration à l'aide de bioessais écotoxicologiques incluant, dans

---

<sup>7</sup> Les tests CALUX pour « Chemically Activated Luciferase gene eXpression » sont des tests écotoxicologiques basés sur la bioluminescence qui reposent sur des cellules modifiées pour exprimer un gène de luciférase lorsqu'une substance chimique spécifique se lie à un récepteur spécifique, par exemple les récepteurs intracellulaires des œstrogènes pour le test ER-Calux<sup>®</sup>.

un premier temps, le test algues combiné et un test pour l'évaluation des substances d'activité œstrogénique a été proposée (Kienle et al. 2015b, Kienle et al. 2015c). Les méthodes considérées comme appropriées pour l'évaluation de la qualité des eaux usées et de la qualité des eaux superficielles conviennent en principe aussi à l'évaluation des lixiviats de décharges.

Ci-dessous, plusieurs exemples de projets, menés par ou impliquant le Centre Ecotox, abordant l'utilisation des tests écotoxicologiques dans différents contextes, tels que le suivi de l'impact des stations d'épuration, la biosurveillance ou la qualité des eaux karstiques sont cités :

- Les premiers travaux concernaient l'évaluation de la qualité des eaux usées et des traitements avancés avec plusieurs études ces quinze dernières années (Abegglen et al. 2009, Stalter et al. 2010, Bundschuh et al. 2011, Kienle et al. 2011, Margot et al. 2013, Schindler Wildhaber et al. 2015, Völker et al. 2019, Kienle et al. 2022). Des tests écotoxicologiques ont notamment été réalisés pour quantifier les changements dans la qualité de l'eau après ozonation et/ou traitement avec charbon actif. Il s'agissait de bioessais *in vitro* pour la détection des effets endocriniens, génotoxiques et mutagènes, ainsi que de la toxicité pour les algues vertes et les bactéries, et des bioessais *in vivo* utilisant des invertébrés, comme les oligochètes, les daphnies, les gammarus, et les premiers stades de la vie de la truite arc-en-ciel. Les résultats des essais biologiques ont montré que les traitements avancés peuvent éliminer un large spectre de micropolluants et des effets associés à plus de 80 %. Afin de réduire le risque d'introduction de produits de transformation toxiques et biodégradables dans la masse d'eau, l'ozonation devrait toujours être suivie d'une étape avec une activité biologique, par exemple un filtre à sable ou un traitement avec charbon actif (Kienle et al. 2015b, Kienle et al. 2022). Sur la base de ces études, la méthode de test de l'ozone du VSA a été développée à l'Eawag (Schindler Wildhaber et al. 2015, Wunderlin et al. 2015). Cette procédure de test permet d'évaluer si une eau usée est adaptée à l'ozonation. Cette procédure doit aujourd'hui être utilisée par tous les exploitants de stations d'épuration qui envisagent d'appliquer cette méthode d'épuration plus poussée à leurs eaux usées (Grelot et al. 2020). Dans le cadre de cette évaluation, les bioessais fournissent donc des informations importantes pour décider de la mise en place d'une ozonation ou non.
- Toujours dans le domaine des eaux usées, dans le cadre du projet « Ecoimpact » de l'Eawag, les tests écotoxicologiques ont été appliqués afin d'évaluer la qualité de l'eau en amont et en aval de stations d'épuration dans cours d'eau de taille petite à moyenne (Kienle et al. 2015c, Kienle et al. 2019). En 2024, un projet mandaté par le canton de Soleure a démarré dans le but de contrôler l'efficacité de la station d'épuration de Falkenstein avant et après son extension selon des tests écotoxicologiques réalisés avec des échantillons d'eau de la Dünneren (Kienle et al. 2024).
- Récemment, une surveillance automatisée de la qualité des eaux urbaines et industrielles a été testée en utilisant des organismes aquatiques : l'algue *Chlorella vulgaris* (Algae Toximeter, <http://www.bbe-moldaenke.de>), *D. magna* (DaphTox II, [www.bbe-moldaenke.de](http://www.bbe-moldaenke.de)) et l'amphipode *Gammarus pulex* (Sensaguard, [www.remondis-aqua.com/](http://www.remondis-aqua.com/)). Ces systèmes de tests pourraient être utilisés comme signaux d'alarme précoce de changement de la composition des eaux usées, si possible aussi en parallèle avec l'analyse chimique (instantanée ou en échantillons composites) (Kizgin et al. 2023, Kizgin et al. 2024).
- Publié en 2017, le projet « Kartox » visait à évaluer l'écotoxicité d'échantillons ponctuels d'eau issus de six exutoires karstiques à l'aide de tests écotoxicologiques *in vitro* (six tests CALUX®), et *in vivo* (*A. fischeri*, *D. magna*, *C. dubia*, *R. subcapitata*, la lentille d'eau *Lemna minor* (ISO 2005b) et le rotifère *Brachionus calyciflorus* (ISO 2008b)) (Ferrari et al. 2017). Il visait également à fournir des recommandations quant à l'utilisation possible des bioessais en complément aux approches de caractérisation physico-chimique pour l'évaluation des sites pollués par des déchets se trouvant en milieu karstique.
- Les tests écotoxicologiques ont également été appliqués dans plusieurs projets de surveillance de la qualité de petits cours d'eau. En 2021, une batterie de 15 tests *in vitro* et *in vivo*, pour la plupart standardisés, a été appliquée sur 15 échantillons d'eau de surface pré-

levés sur des sites à exploitation extensive, agricole ou agricole et urbaine. Les bioessais qui présentaient la plupart des dépassements de seuils basés sur les effets étaient plusieurs tests avec gène rapporteur CALUX®, de même que le test algues combiné (paramètre inhibition de la croissance) et les tests de toxicité aiguë avec des embryons et une lignée cellulaire de poisson (Kienle et al. 2023a, Kienle et al. 2023b). Des biomarqueurs ont également été analysés dans des truites de rivières capturées sur le terrain (Voisin et al. 2023). À la suite de ce projet pilote, deux projets dans les cantons de Genève (Ruisseau des Marais) et de Berne (La Suze) ont été menés dans des rivières qui subissent une diminution des populations de poissons.

En résumé, les différents projets cités ci-dessous ont montré une complémentarité des tests écotoxicologiques avec les analyses chimiques, en améliorant notamment la détection de sites présentant une atteinte de l'écosystème aquatique, ou en agissant comme signal précoce d'alerte. Pour constituer une batterie, le choix des bioessais est à adapter à l'objectif de l'étude. De façon générale, cependant, on tâchera de vérifier la présence d'au moins trois niveaux trophiques différents, un producteur primaire, un consommateur primaire et un consommateur secondaire, ainsi que des effets spécifiques adaptés à la pollution attendue sur les sites. À ce jour en Suisse, une utilisation régulière des bioessais aquatiques est observée dans le cadre de la mise en place de systèmes d'ozonation dans les stations d'épuration, mais aussi de plus en plus dans les campagnes de surveillance de la qualité des eaux de surface des cantons.

## 2.4 Aperçu de l'application des bioessais aquatiques en Europe

En Europe, l'évaluation écotoxicologique des lixiviats est effectuée selon des batteries de bioessais similaires à celles recommandées dans l'aide à l'exécution de 1999 en Suisse. Par exemple, dans le cadre de la directive européenne 2008/98/CE relative aux déchets (CE 2008), quinze critères HP (pour « Hazardous Property ») sont appliqués afin de décider qu'un déchet est dangereux ou non dangereux. Le critère HP14 (écotoxique) désigne les « déchets qui présentent ou peuvent présenter des risques immédiats ou différés pour une ou plusieurs composantes de l'environnement » et implique la conduite de tests écotoxicologiques sur les lixiviats, avec le test de bioluminescence sur les bactéries, le test de toxicité aiguë sur les daphnies, le test d'inhibition de la croissance des algues et le test chronique de reproduction sur la cériodaphnie ou le rotifère. Une seule réponse toxique suffit à classer le déchet comme écotoxique (UBA 2013).

En Allemagne, par exemple, cette directive a été transposée dans la législation en 2002 (UBA 2013). Une grande recherche bibliographique avait permis de sélectionner des tests écotoxicologiques et dériver des seuils de toxicité (LUBW 2004a, b). Un essai circulaire international a également été effectué (Becker et al. 2007). Toujours en Allemagne, l'application de tests écotoxicologiques aux eaux souterraines dans le cadre du suivi de sites pollués de type décharge a été discutée dans plusieurs états fédéraux et dans différents groupes de travail, comme par exemple en Hesse (HLUG 2014). Le guide issu de ces travaux pourra se montrer utile dans certains cas, mais au moment de la publication il n'était pas prévu que les tests écotoxicologiques soient intégrés dans la procédure de gestion des sites contaminés.

Aux Pays-Bas les recommandations pour les batteries de tests, *in vivo* mais de façon novatrice aussi *in vitro*, s'étendent en plus des lixiviats et des eaux souterraines aux eaux de surface (Fig. 1). Des informations détaillées sont disponibles avec des fiches d'informations sur le site internet de la STOWA, fondation pour la recherche appliquée en gestion de l'eau ([www.sleutelfactortoxiciteit.nl/verdieping/werken-met-het-bioassayspoor/aan-de-slag-met-standaard-bioassays-gevoelig-en-algemeen](http://www.sleutelfactortoxiciteit.nl/verdieping/werken-met-het-bioassayspoor/aan-de-slag-met-standaard-bioassays-gevoelig-en-algemeen)) (Pronk et al. 2021). Aucun bioessai n'est cependant implémenté dans la réglementation, mais les discussions continuent au sein du projet « Effect Based Monitoring » (EBM) du « Global Water Research Coalition » (GWRC).

Test Battery	Water Type	Bioassays
Minimal (e.g. no laboratory access)	All	Bacterial toxicity
Practical	Wastewater/ recycled water	ER, Oxidative Stress, AhR
Practical + DBP	Drinking water	ER, Oxidative Stress, Mutagenicity/genotoxicity, AhR
Comprehensive	All	ER, AR, GR, PR
		Oxidative Stress, p53, NF-κB, AhR, PPAR, PXR
		Fish embryo toxicity, Daphnia immobilization, Algal growth inhibition

xenobiotic metabolism; hormone receptor-mediated effects; **adaptive stress responses**; apical effects  
 AhR: aryl hydrocarbon receptor; AR: androgen receptor; ER: estrogen receptor; GR: glucocorticoid receptor; PPAR: peroxisome proliferator-activated receptor; PXR: pregnane X receptor; PR: progesterone receptor

Figure 1 : Mécanismes recommandés par le GWRC à surveiller au moyen de bioessais pour les eaux usées (« wastewater »), les eaux de surface (« recycled water ») et l'eau potable (« drinking water »), et un ensemble supplémentaire de bioessais (« all ») (Pronk et al. 2021).

Concernant la surveillance des eaux de surface dans le cadre de la directive cadre sur l'eau (DCE) (CE 2000), le recours à des bioessais a été discuté à plusieurs reprises et a fait l'objet de plusieurs rapports techniques à l'échelle de l'Europe (Carere et al. 2021) ou dans les pays membres (ex. en France (Manier et al. 2023)). Le document européen a mis en évidence le potentiel des méthodes basées sur les effets dans le cadre du contrôle de surveillance pour établir un ordre de priorité des masses d'eau à étudier plus en profondeur, ou comme systèmes d'alerte précoce pour des sites situés loin des sources locales et en principe considérés comme ne présentant pas de risque. Ils peuvent également être utilisées dans le cadre du contrôle d'investigation pour tenir compte des mélanges ou des produits chimiques inconnus et, en général, pour apporter un soutien supplémentaire à l'évaluation de la qualité de l'eau (et des sédiments) (Carere et al. 2021).

En France, un inventaire et une évaluation détaillés des méthodes écotoxicologiques ont été récemment publiés dans un but d'utilisation dans le cadre de la directive sur l'eau (Manier et al. 2023). Douze pages listent plus de 60 bioessais aquatiques (toxicité générale ou spécifique) et 13 tests *in situ* (par ex. avec l'encagement d'amphipodes *G. fossarum* (AFNOR 2023)) ou de biosurveillance en continu (par ex. ToxMate Lab, [www.toxmate.fr](http://www.toxmate.fr)). Le rapport de synthèse du Centre Ecotox publié en 2015 (Kienle et al. 2015a) et cité plus haut s'est montré être une base solide de connaissances pour cet inventaire mais aussi pour l'évaluation et le classement des tests selon des critères similaires. Dans le détail, les critères retenus pour le classement des tests comprenaient neuf critères scientifiques (par ex., spécificité de la réponse, normalisation, applicabilité, pertinence écologique, recul sur l'interprétation, etc.) et sept critères technico-économiques (obtention de l'organisme d'essai, coût, compétences requises, etc.). Le classement des bioessais a été établi pour deux scénarios d'utilisation en lien avec les objectifs DCE : (i) « Évaluation de la qualité des effluents aqueux, impact des rejets sur le milieu récepteur » et (ii) « Surveillance générale de la qualité des eaux de surface ».

Concernant le scénario i., le rapport recommande une approche graduée pour la réalisation de bioessais pour la toxicité générale et l'activité endocrinienne. Ainsi, pour l'écotoxicité générale, il est proposé de travailler en deux phases :

- Phase 1 : la prise en compte *a minima* des bioessais qui renseignent sur l'écotoxicité aiguë de la matrice à tester pour au moins 2 compartiments trophiques (par ex., producteur primaire *L. minor* et consommateur primaire *D. magna*).

- Phase 2 : en fonction de l'écotoxicité observée, la réalisation d'essais permettant de renseigner sur l'écotoxicité chronique pour au moins 2 compartiments trophiques (par ex., test croissance algue verte et toxicité chronique sur le rotifère *B. calyciflorus*).

Concernant le scénario ii., illustré par la figure ci-dessous, le rapport recommande de recourir à des bioessais de toxicité générale chronique, couplé à des bioessais renseignant sur une toxicité spécifique d'un mode d'action (Fig. 2). Contrairement à l'évaluation des rejets, il n'y a ici pas de tests de toxicité aiguë. Le choix des bioessais spécifiques doit être adapté au cas par cas et selon l'avancement du développement et de la standardisation de nouvelles méthodes.

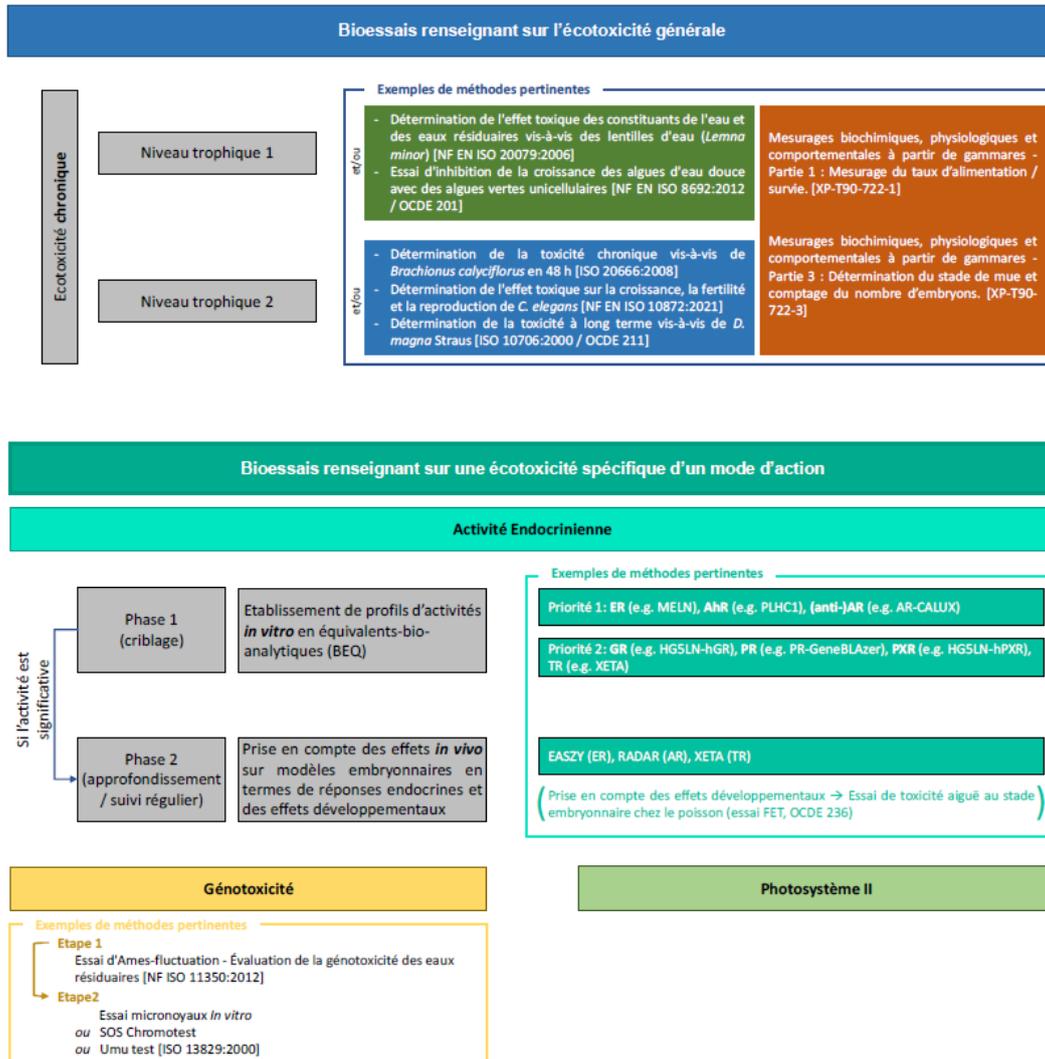


Figure 2 : Structure de la batterie de bioessais et exemples de tests possibles, applicables au scénario ii. « Surveillance générale de la qualité des eaux de surface » (Manier et al. 2023).

Preuve de l'intérêt et du besoin de méthodes basées sur les effets, une proposition de modification de la directive-cadre sur l'eau, la directive sur les eaux souterraines et la directive sur les normes de qualité environnementale, actuellement en projet au sein de la Commission Européenne, prévoit des critères de qualité de l'eau réduits pour les œstrogènes stéroïdiens tels que le 17β-estradiol et mentionne également l'utilisation de bioessais *in vitro* pour mesurer l'activité de ces composés (CE 2022).

Dans le cadre de la réglementation sur les déchets, bien que l'évaluation écotoxicologique des déchets soit une obligation légale en Europe via le critère HP14, les méthodes n'ont pas encore été validées. Un récent article a cependant été publié par des chercheurs italiens démontrant l'utilité d'intégrer l'évaluation écotoxicologique des lixiviats de déchets (batterie de test bactérie, algue, daphnie) avant leur mise en décharge et proposant des systèmes de classification nécessaires afin d'intégrer les résultats des tests écotoxicologiques (Alias et al. 2024).

Les tests écotoxicologiques pour les échantillons aqueux ont été regroupés dans le tableau suivant (*Tab. 1*) On y retrouve la plupart des tests cités précédemment et d'autres tests standardisés ou en cours de standardisation.

Tableau 1 : Liste non exhaustive de tests écotoxicologiques disponibles pour les échantillons aqueux. Les cellules colorées en vert indiquent les tests intégrés dans des réglementations selon le rapport de Kienle et al. (2015a).

Groupe taxonomique	Méthode et espèce	Effets / Mécanismes	Standard / Référence
Producteurs primaires	Test d'inhibition de croissance aiguë/chronique avec des algues ( <i>Raphidocelis subcapitata</i> )	Inhibition de la croissance	ISO 8692 (ISO 2012a)
	Test combiné sur les algues ( <i>R. subcapitata</i> )	Inhibition de la photosynthèse et de la croissance	En cours de normalisation ISO
	Essai d'inhibition de la croissance des lentilles d'eau ( <i>Lemna minor</i> , <i>Spirodela polyrhiza</i> )	Inhibition de la croissance	ISO 20079 (ISO 2005b) ISO 20227 (ISO 2017b)
Bactéries	Essai de bactéries luminescentes aiguës ( <i>Allivibrio fischeri</i> )	Inhibition de la luminescence	ISO 11348 (ISO 2007a)
	Essai d'inhibition de la croissance des bactéries (chronique) ( <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Photobacterium phosphoreum</i> )	Inhibition de la croissance	ISO 10712 (ISO 1995) DIN 38412-L37 (Deutsches Institut für Normung 1999)
Macroinvertébrés (Consommateurs primaires, broyeurs, etc.)	Détermination de l'inhibition de la mobilité de <i>Daphnia magna</i> — Essai de toxicité aiguë	Inhibition de la mobilité	ISO 6341 (ISO 2012b)
	Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis des puces d'eau ( <i>D. magna</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> )	Inhibition de la reproduction et mortalité	ISO 10706 (ISO 2000b) ISO 20665 (ISO 2008a)
	Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode), Partie 1 : Dosage de l'activité enzymatique acétylcholinestérase (AChE)	Effets neurotoxiques (activité enzymatique acétylcholinestérase)	AFNOR XP T 90-722-1 (AFNOR 2020a)
	Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode), Partie 2 : Mesure de marqueurs de reproduction	Inhibition de la reproduction	AFNOR XP T 90-722-2 (AFNOR 2020b)
	Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode), Partie 3 : Mesure du taux d'alimentation	Effets sur le taux d'alimentation	AFNOR XP T 90-722-3 (AFNOR 2020c)
	Encagement <i>in situ</i> de gammarès pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques	Bioaccumulation	AFNOR NFT90-721 (AFNOR 2023), En cours de normalisation ISO
Vertébrés (poissons) (consommateurs secondaires)	Détermination de la toxicité aiguë des eaux résiduaires vis-à-vis des oeufs de poisson-zèbre ( <i>Danio rerio</i> )	Effets sur la survie des embryons de poissons	ISO 15088:2007 (ISO 2007b)
	Essai de toxicité aiguë au stade embryonnaire de poissons (FET)	Effets sur le développement (effets sublétaux) et la survie des embryons et des larves de poissons	OECD 236 (OECD 2013)
	Essai de toxicité aiguë pour les poissons	Mortalité	OECD 203 (OECD 1992)
	Biomarqueurs moléculaires dans lignées cellulaires de foie de truite arc-en-ciel	Effets sublétaux, expression de gènes : biotransformation, stress oxydant, système endocrinien, système immunitaire, métabolisme, réponse au stress, réponse aux métaux	par ex. Voisin et al. 2023
	Biomarqueurs dans le foie et le cerveau de truites de rivières prélevées sur le terrain		

Tableau 1 (suite).

Groupe taxonomique	Méthode et espèce	Effets / Mécanismes	Standard / Référence
Cytotoxicité	Cytotox-CALUX® (lignées cellules humaines)	Dommmages aux composants cellulaires tels que les membranes, les noyaux cellulaires et les lysosomes	van der Burg et al. 2013
	Test sur lignée cellulaire de branchie de truite arc-en-ciel RTgill-W1	Activité métabolique, intégrité de la membrane cellulaire et intégrité des membranes lysosomiales	ISO 21115 (ISO 2019)
	PXR-CALUX® (Pregnane X Receptor)	Détection des xénobiotiques	van der Burg et al. 2013
Stress oxydatif	Nrf2-CALUX®	Réaction cellulaire au stress oxydatif	
Métabolisme des polluants	PAH-CALUX®	Activation de la réponse cellulaire aux hydrocarbures aromatiques polycycliques	van der Burg et al. 2013, en cours de normalisation ISO
	DR (Dioxin Receptor)-CALUX®	Activation de la réponse cellulaire aux dioxines ou aux composés de type dioxine	
	PFAS-CALUX®	Activation de la réponse cellulaire aux composés alkylés per- et polyfluorés (PFAS)	van der Burg et al. 2013
Perturbation endocrinienne	Détermination du potentiel oestrogène de l'eau et des eaux résiduaires, Partie 1 : Essai d'oestrogénicité sur levures ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Activité oestrogénique	ISO 19040-1 (ISO 2018c)
	Détermination du potentiel oestrogène de l'eau et des eaux résiduaires, Partie 2 : Test d'oestrogénicité (A-YES, <i>Arxula adenivorans</i> )		ISO 19040-2 (ISO 2018a)
	Détermination du potentiel oestrogène de l'eau et des eaux résiduaires, Partie 3 : Essai <i>in vitro</i> sur cellules humaines avec gène rapporteur (p.ex. ER-CALUX®)		ISO 19040-3 (ISO 2018b), OECD 455 (OECD 2021)
	Essai d'androgénicité sur levures ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) Anti-AR-CALUX®	Activité (anti-)androgénique	OECD 458 (OECD 2023b)
Génotoxicité et mutagénicité	Détermination de la génotoxicité des eaux et des eaux résiduaires à l'aide de l'essai umu	Génotoxicité	ISO 13829 (ISO 2000a)
	Évaluation de la génotoxicité des eaux résiduaires — Essai de Salmonella/microsome (essai d'Ames-fluctuation)	Mutagénicité	ISO 11350 (ISO 2012c)

### 3 Évaluation écotoxicologique des sédiments pollués

Les eaux de surface, lacs, étangs, rivières et ruisseaux sont des biens à protéger selon l'OEaux. Des sites pollués à proximité immédiate peuvent menacer leur qualité. Les masses d'eau de surface se composent de différents compartiments, l'eau et les sédiments, tous deux peuvent être affectés par un site contaminé à proximité des eaux de surface. De plus, les sédiments peuvent eux-mêmes constituer un site pollué sous l'eau. Une difficulté de l'investigation de tels sites réside notamment de savoir si et quand des sédiments pollués constitueraient un site pollué au sens de l'OSites. Afin d'engager des mesures pour assainir les sédiments du point de vue de la législation sur les sites contaminés, il faut montrer que les sédiments font partie d'un site pollué et que la contamination des sédiments (et indirectement celle du biote) affecte la qualité des eaux superficielles ou souterraines et empêche leur utilisation (eau potable, pêche, protection de la biocénose protégée...) (OFEV 2020). L'aide à l'exécution publiée en 2020 sur les sites pollués et eaux de surface, selon la demande des cantons, a pour but de donner un cadre à cette problématique (OFEV 2020).

#### 3.1 Surveillance de la qualité des sédiments en Suisse

Les sédiments peuvent être pollués par de nombreuses substances historiques ou actuelles et il peut en résulter un danger pour les organismes benthiques et sur l'écosystème entier. La publication de la stratégie du Centre Ecotox pour la surveillance de la qualité des sédiments en Suisse en 2021 (Casado et al. 2021) constitue une aide précieuse pour les gestionnaires pour la réalisation d'un échantillonnage selon des méthodes harmonisées et adaptées à l'objectif d'étude. De plus, le Centre Ecotox, développe des critères de qualité selon la méthode européenne pour une liste de substances. Contrairement à la colonne d'eau il n'est pas prévu d'inclure ces critères comme valeurs légales dans l'OEaux pour les sédiments. Ces valeurs peuvent cependant servir de déclencheurs d'investigations écotoxicologiques ou d'analyses chimiques supplémentaires.

En Suisse, au Centre Ecotox, plusieurs projets ont ces dernières années concerné la mise en place de tests écotoxicologiques dans le contexte de surveillance de la qualité des eaux de surface mais aussi dans le cadre d'investigation de sites pollués. Pour ces derniers, nous pouvons citer par exemple deux projets récents :

- En 2023, un projet a été mené sur l'impact d'un site d'entraînement des pompiers sur la qualité de deux rivières en aval. Les analyses chimiques ont montré des concentrations en PFAS importantes et le test écotoxicologique avec l'ostracode *Heterocypris incongruens* (ISO 2012d) a prouvé une atteinte sur les organismes benthiques (Beauvais et al. 2024).
- Actuellement en cours, un projet étudie la qualité écotoxicologique des sédiments d'un canal soumis à des rejets industriels à l'aide d'une batterie de bioessais comprenant l'ostracode *H. incongruens*, le chironome *Chironomus riparius* (AFNOR 2010) et le nématode *Caenorhabditis elegans* (ISO 2020).

Pour la surveillance de la qualité des sédiments, nous pouvons citer quelques exemples de l'application de batteries de tests écotoxicologiques, qui pourraient également être utiles pour les études d'atteintes des sites pollués :

- En 2019, pour évaluer la qualité des sédiments de trois canaux du Chablais valaisan, une approche intégrée de type triade a été adoptée par le Centre Ecotox, mandaté par le canton du Valais. Cette approche implique trois lignes d'investigations, les analyses chimiques (chimie), les bioessais (écotoxicologie) et l'étude des communautés en place (écologie). Les bioessais comprenaient le test sur le nématode *C. elegans* et sur l'ostracode *H. incongruens* (Beauvais et al. 2020). La triade a permis de montrer des sites problématiques en termes de contamination chimique mais aussi en termes d'effets toxiques sur les organismes benthiques.

- En 2021, une campagne de mesure par des bioessais sur plusieurs cantons a permis de montrer la complémentarité des trois bioessais effectués sur des sédiments de petits cours d'eau, le test sur *H. incongruens*, *C. riparius* et *C. elegans* (Casado-Martinez et al. 2023), mais aussi la complémentarité des bioessais sur sédiments aux bioessais aquatiques (Kienle et al. 2023a, Kienle et al. 2023b).
- En 2023, dans le cadre de deux projets mandatés par des offices cantonaux, les sédiments de deux cours d'eau ont été prélevés à la suite de diminutions inexplicables de populations de poissons. Les sédiments de trois sites ont été testés avec les bioessais sur l'ostracode *H. incongruens* et l'insecte *C. riparius*. Sur les mêmes sites, des échantillons d'eau ont aussi été testés et les communautés d'oligochètes<sup>8</sup> étudiées. Dans un de cours d'eau, l'émergence des chironomes a notamment été réduite de 50 %, signifiant une contamination importante des sédiments dont il faut encore déterminer la cause (Centre Ecotox, non publiés).

Les bioessais sur les sédiments permettent une complémentarité aux tests aquatiques dans des études intégrées afin d'évaluer la qualité d'un cours d'eau. Au cours des projets cités, le test avec les ostracodes a montré la plus grande sensibilité pour la détection d'effets. Un canton teste actuellement la mise en place de ce bioessai en routine pour la surveillance de ses cours d'eau en complément des analyses chimiques. Dans le cadre des études citées ci-dessus et des projets de développement au Centre Ecotox, le but est de contribuer dans le choix des tests (participation à des essais circulaires et études aux sites pilotes) et de développer un cadre d'interprétation pour la Suisse qui pourrait être utilisé dans les cas de surveillance mais aussi, si envisagé, dans l'investigation des sites pollués.

### 3.2 Aperçu des concepts de gestion des sédiments pollués en Amérique du Nord et en Europe

Pour la gestion des sites pollués, nous pouvons nous référer aux premiers concepts développés aux États-Unis, pionniers du développement et de l'utilisation des bioessais dans les cadres d'évaluation de l'assainissement et de la surveillance des sédiments contaminés. En effet, afin de faciliter l'identification des sites présentant des risques inacceptables pour l'environnement, l'agence américaine de protection de l'environnement (USEPA) a élaboré des orientations pour la réalisation d'évaluations des risques écologiques dans le cadre du programme Superfund (Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act of 1980) (USEPA 1997). L'évaluation des risques écologiques est utilisée pour identifier et caractériser les « dangers actuels et potentiels » pour l'environnement résultant du rejet de substances dangereuses et pour déterminer les niveaux d'assainissement qui protégeraient les ressources naturelles contre des risques inacceptables. L'évaluation des risques écologiques intègre un large éventail de bioessais et d'études afin de déterminer s'il existe ou non des risques écologiques inacceptables sur un site, y compris des données des tests de toxicité (USEPA 1999). Dans une première étape de l'évaluation, les concentrations de contaminants mesurées sont comparées à une valeur de référence ou valeur seuil basée sur l'effet. Les seuils fournissent aux gestionnaires de sites Superfund un outil destiné à être utilisé à des fins de sélection uniquement, et ne constituent pas des critères réglementaires, des normes d'assainissement spécifiques à un site ou des objectifs d'assainissement. Si la concentration dans les sédiments dépasse le seuil, une évaluation plus poussée est justifiée, par exemple via des bioessais, en tant qu'indicateurs du potentiel d'impacts négatifs sur le terrain et peuvent être utilisés comme indicateurs d'effets probables sur les objectifs de protection. Par exemple, des effets sur des espèces d'invertébrés ou d'algues lors de tests de toxicité en laboratoire peuvent être utilisés comme indicateurs d'effets probables alors que l'objectif de protection est la communauté aquatique dans son ensemble (y compris les poissons

<sup>8</sup> La composition de la communauté varie donc en fonction du degré de contamination du milieu. L'Indice Oligochètes de Bioindication des Sédiments (IOBS), basé sur la composition de la communauté d'oligochètes des sédiments fins/sableux des cours d'eau, donne une indication de la pollution de type toxique et vient ainsi compléter l'information écologique fournie par les autres bioindicateurs, comme l'IBCH pour les macroinvertébrés et le DI-CH pour les diatomées. Pour plus d'informations : <https://www.centreecotox.ch/news-publications/actualites/nouvelle-etape-franchie-pour-lindice-oligochetes-genetique-pour-les-sediments>.

de niveau trophique supérieur qui dépendent des niveaux trophiques inférieurs de la communauté). Dans ce concept, les bioessais sont aussi reconnus comme nécessaires pour déterminer le degré de biodisponibilité d'un contaminant sur un site donné, notamment pour les substances inorganiques.

Ainsi, aux États-Unis, les tests écotoxicologiques ont déjà été impliqués dans de nombreux cas d'investigation, de surveillance et d'assainissement. Des exemples peuvent être retrouvés sur le site <https://www.usgs.gov/search?keywords=sediment+remediation>, que ce soit pour des métaux, y compris le Hg ou des polluants organiques comme les PCB. Par exemple, des tests de toxicité de contact avec les sédiments avec l'amphipode *Hyalella azteca* (ISO 2013a) et le moucheron *Chironomus dilutus* (ASTM 2020), ainsi que la bioaccumulation avec l'oligochète *Lumbriculus variegatus*, ont été réalisés dans le cadre d'une approche « weight of evidence » afin d'évaluer les risques et d'établir des objectifs d'assainissement pour les sédiments sur le site d'Anniston contenant des PCB (Ingersoll et al. 2013).

Toujours en Amérique du Nord, le « cadre décisionnel Canada-Ontario » est un guide complet pour l'évaluation de la contamination des sédiments des Grands Lacs. Cette dernière repose sur plusieurs questions, notamment, la présence d'un risque potentiel, la bioamplification, si les communautés sont affectées, si le sédiment est toxique (Environnement\_Canada 2008). Les tests de toxicité des sédiments sont recommandés si les concentrations d'une ou plusieurs substances sont supérieures aux seuils et statistiquement différentes des conditions de référence, et après un jugement d'expert minutieux pour évaluer leur nécessité. Si nécessaires, en règle générale les tests de toxicité des sédiments en laboratoire sont effectués sur trois ou quatre espèces normalisées, sensibles et appropriées, vivant dans les sédiments et/ou associés aux sédiments (par ex. *Hexagenia*, *Hyalella*, chironomes, oligochètes) qui sont raisonnablement similaires à ceux que l'on trouve (ou que l'on s'attend à trouver) sur le site (sur la base des données disponibles) et combinent la survie, la croissance et la reproduction (c'est-à-dire les paramètres aigus et chroniques et les traits biologiques pertinents pour suivre l'impact au niveau des populations). Une matrice de décision permet de conduire des investigations supplémentaires ou d'étudier des sédiments plus profonds. Il s'agit donc d'une approche écosystémique pour évaluer les sédiments et aider à la prise de décisions d'assainissement se basant en priorité sur les résultats des investigations biologiques.

Un autre exemple, dans le cadre du plan d'action St Laurent 2011-2026, deux tests écotoxicologiques sont cités *H. azteca* (survie, croissance) et *C. riparius* (survie, croissance) dans un guide pour la caractérisation physico-chimique et toxicologique des sédiments. Ces tests doivent être effectués selon les normes canadiennes dans le cas de dépôt de sédiments dans la rivière ou des projets de restauration (MELCCFP\_Canada 2016).

En Europe, plusieurs revues bibliographiques ont soulevé les différents outils disponibles et l'intérêt que l'investigation des sédiments contaminés pouvait présenter dans l'évaluation de la qualité de l'eau selon la directive cadre sur l'eau (CE 2010). Par exemple :

- "Contaminated sediment in European river basins" du réseau européen de recherche sur les sédiments, SedNet (Salomons et al. 2004). Ce document décrit les principales sources, les processus de transport et les impacts de sédiments contaminés ainsi que les principaux outils, chimiques, biologiques et études d'impacts, pour les évaluer et les gérer.
- "Integrated Risk Assessments for the Management of Contaminated Sediments in Estuaries and Coastal Systems" (Aplitz 2011). Cette revue a pour but de décrire différents aspects de l'évaluation de la qualité des sédiments (chimie, écotoxicologie, bioaccumulation) selon différents objectifs de gestion (assainissement, dragage).
- "Integrated sediment management guidelines and good practices in the context of the Water Framework Directive" (Ausili et al. 2022). Ce document vise à établir une compréhension harmonisée du rôle des sédiments dans la réalisation des objectifs de la directive-cadre sur l'eau et plus généralement sur la qualité des eaux de surface.

De façon volontaire, plusieurs pays européens ont publié des guides sur l'implémentation de tests écotoxicologiques dans la gestion des sédiments contaminés ou pour la biosurveillance. C'est le cas par exemple de la Suède et de la Norvège, la Belgique (région Flandre), des Pays-Bas, de l'Allemagne et de la France. Néanmoins, il n'est pas prévu d'implémenter des bioessais sur les sédiments dans la réglementation de ces pays.

### 3.3 Exemples de recommandations nationales sur les tests écotoxicologiques sur les sédiments en Europe

#### 3.3.1 Suède

En Suède, il n'y a pour l'heure aucun guide officiel pour évaluer le risque des sédiments contaminés, malgré une volonté d'établir un cadre pour la protection des écosystèmes aquatiques (Severin et al. 2018). Les agences gouvernementales ont en effet été consultées afin d'identifier les buts de l'évaluation des sédiments. Ainsi, développé par cinq administrations et agences gouvernementales, un site internet, [renasediment.se](http://renasediment.se), regroupe des informations concernant les sédiments contaminés. Ces informations sont importantes afin d'identifier des sites à assainir en priorité et de suivre l'évolution de la contamination.

Selon le rapport publié en 2008 par l'Agence suédoise pour la protection de l'environnement « Stratégie d'évaluation des risques environnementaux liés aux sédiments contaminés » (Sternbeck et al. 2008), l'évaluation du risque est basée sur les méthodes existantes pour les sols mais également alignée sur l'approche américaine. L'approche est graduée (« tiered »). Les bioessais de toxicité des sédiments font partie des méthodes qui peuvent être utilisées pour l'évaluation des effets, dont les résultats sont ensuite intégrés aux résultats de l'évaluation de l'exposition dans l'évaluation des risques. La sélection des bioessais doit être adaptée à l'étude de cas, par exemple, en fonction des substances préoccupantes et des récepteurs à risque.

#### 3.3.2 Norvège

En Norvège, l'agence de l'environnement a publié en 2015 un guide technique pour l'évaluation des risques environnementaux liés aux sédiments contaminés dans les fjords et les zones côtières (Breedveld et al. 2015). Il a été préparé pour aider les fonctionnaires de l'administration, des propriétaires de problèmes, des consultants et d'autres personnes, afin de les aider à évaluer les zones de sédiments marins en vue d'éventuelles mesures. L'objectif est d'évaluer le risque de dommages environnementaux ou d'atteintes à la santé que présentent les sédiments et juger si le risque est acceptable ou non dans un contexte de gestion, partie de la procédure d'assainissement des sédiments contaminés. L'évaluation du risque se développe comme une approche graduelle à trois niveaux, avec une complexité et une exigence croissante et une demande de données locales. Les bioessais sont inclus dans l'étape initiale, où des tests de toxicité générale réalisés avec l'eau interstitielle des sédiments (test avec l'algue verte *Skeletonema costatum*, des crustacés benthiques (p.ex. le copépode *Tisbe battaglia*) et des larves d'invertébrés (p.ex. l'huître *Crassostrea gigas*)) sont proposés pour tenir compte de la toxicité des mélanges et des substances chimiques non mesurées. Si la présence de dioxines ou de polluants de type dioxine est suspectée dans les sédiments, il est recommandé d'effectuer un test réalisé sur un extrait organique du sédiment (DR CALUX®) pour la détection spécifique de ces substances dans cette étape initiale. Dans une deuxième étape, le risque d'effets sur l'écosystème est évalué sur la base des concentrations calculées de polluants auxquelles les organismes sont exposés dans l'eau et les sédiments, comparées aux valeurs seuils pertinentes, et le résultat d'un test de toxicité des sédiments entiers (test avec le polychaete *Arenicola marina* ou le crustacé amphipode *Corophium volutator*). Enfin, dans une troisième étape, une évaluation encore plus poussée peut être conduite, spécifique à la situation locale. Il peut s'agir d'études de bioaccumulation et de transfert trophique par exemple. Le but est d'affiner l'évaluation du risque et de déterminer si des mesures d'assainissement sont nécessaires.

### 3.3.3 Belgique

En Belgique, dans la région Flandre, le développement d'utilisation de la triade (Chapman 1990) est arrivé assez tôt après les États-Unis. Depuis 2000, pour les sédiments, le test de toxicité aiguë avec l'amphipode *H. azteca* mais aussi tests sur l'eau interstitielle des sédiments (croissance d'algues vertes *R. subcapitata*, mortalité sur le crustacé *Thamnocephalus platyrus* (ISO 2011) sont recommandés (de Deckere et al. 2000). Dans le rapport cité, une description détaillée est également disponible pour l'examen des malformations morphologiques du mentum des larves de chironomes de stade IV qui peuvent être un biomarqueur d'exposition des chironomes à des contaminants toxiques. Depuis 2002, un test a été ajouté à la batterie, le test de contact avec *H. incongruens* (Chial & Persoone 2002). Ce qui ajoute un marqueur d'effet chronique (croissance). Pour l'interprétation des données et une communication aisée, 4 classes de qualité sont utilisées (bleu-non pollué, vert-légèrement pollué, jaune-pollué et rouge-fortement pollué). Les bioessais sont intégrés dans une triade (Tab. 2). Inspirée de la « Procédure d'évaluation des risques écologiques spécifiques au site de la contamination des sols (approche TRIADE de la qualité du sol) » (ISO 2017a), l'intégration des résultats permet des comparaisons simples amont/aval ou avant/après assainissement et de prioriser les sites. L'utilisation principale de cette triade reste cependant la biosurveillance. En effet, la Société flamande pour l'environnement (VMM) utilise la méthode des trois faisceaux de preuve pour surveiller la qualité des sédiments. Le réseau de surveillance comprend quelques 600 sites qui sont analysés tous les quatre ans depuis 2000. En 2008, le nombre de sites par cycle a été réduit à 300 sites de surveillance. Depuis 2016, un cycle de 6 ans a été maintenu. Les résultats des campagnes de mesure sont accessibles sur une carte en ligne (<https://www.geopunt.be>). De plus, les matières en suspension sont aussi surveillées. Ce pays est donc en avance en Europe et peut servir de modèle pour le développement d'un cadre pour la Suisse. Les données de suivi sont disponibles en ligne <https://www.vmm.be/data/waterkwaliteit>.

Tableau 2 : Exemple de la triade appliquée depuis près de 25 ans en Flandres pour la surveillance de la qualité des sédiments par l'agence gouvernementale de l'environnement.

Composants	Techniques utilisées	Informent sur...
Caractérisation physico-chimique	Analyse des propriétés intrinsèques des sédiments	Type de sédiment (granulométrie, matière organique), type et degré de contamination (métaux, HAP, PCB...)
Écotoxicologie	Bioessais en laboratoire : - Phase solide : <i>H. azteca</i> et/ou <i>H. incongruens</i> - Phase liquide : <i>R. subcapitata</i> et <i>T. platyrus</i>	Danger potentiel pour les organismes benthiques (toxicité générale)
Biologie	Analyse de la composition et abondance de communautés épi- et endobenthiques	La qualité écologique des sédiments, habitat pour les organismes benthiques.

Côté gestion, une publication récente présente le premier plan d'action (2022-2027) flamand pour la gestion des sédiments pour le district hydrographique de l'Escaut et de la Meuse (Coördinatiecommissie\_Integraal\_Waterbeleid 2020). Le but cette fois est de programmer l'assainissement de dix hotspots (cinq ont déjà commencé). L'évaluation de la qualité des sédiments est alors basée sur des valeurs seuils qui déclenchent des investigations complémentaires afin de décider si un assainissement est nécessaire.

Un « code de bonnes pratiques » avait déjà été publié en 2022 par l'agence publique flamande des déchets, OVAW, selon plusieurs objectifs de l'étude des sédiments (OVAM 2022) : utilisation du sédiment dragué, identification de la qualité des sédiments, déterminer l'impact et l'étendue de la contamination des sédiments. Actuellement, une revue de littérature récente (dernière dix années) sur les bioessais pour les sédiments est en préparation en Flandres sur mandat de l'OVAM (Vito 2024). La motivation de ce rapport sur l'écotoxicologie repose, comme c'est le cas ici, sur le fait qu'aucune valeur légale n'existe pour l'assainissement des sédiments. Le rapport préliminaire propose des fiches détaillées pour orienter les gestionnaires dans le choix de tests écotoxicologiques. On y retrouve notamment les tests déjà utilisés couramment dans les études du Centre Ecotox, par exemple le nématode *C. elegans*, le chironome *C. riparius*, l'ostra-

code *H. incongruens*, mais aussi les amphipodes, les oligochètes, et les plantes (par ex. *Myriophyllum sp.*). Le but est de compléter une batterie de tests initiale avec des tests chroniques de contact avec les sédiments. Le rapport considère 2 scénarii, le cas d'une forte contamination chimique, pour cela deux tests de toxicité chronique sont proposés, *C. elegans* et *H. incongruens*. Si les tests ressortent négatifs d'autres plus sensibles ou plus longs peuvent être ajoutés. Ces derniers sont aussi recommandés en plus des 2 premiers dans les cas d'une contamination moyenne (entre 2 valeurs seuils). Les critères de choix pour évaluer les bioessais dans ce rapport incluent notamment la pertinence écologique, le niveau de standardisation, l'applicabilité (expérience), la disponibilité et la sensibilité de l'organisme, les conditions de tests et une estimation du coût d'implémentation (Vito 2024). Cette partie appuiera le développement du pilier « risque écotoxicologique » qui s'ajoute aux piliers « risque de dispersion » et « risque toxicologique ».

### 3.3.4 Pays-Bas

Un guide néerlandais propose des méthodes permettant de déterminer dans quelle mesure la réalisation des objectifs de qualité de l'eau peut être entravée par des sédiments contaminés. Pour cela, différents modèles sont construits selon l'objectif de protection (par exemple, dépassement des critères de qualité EQS de l'eau ou du biote, détérioration de la qualité écologique...) (Hin et al. 2010). Les bioessais ne sont cités que comme méthodes spécifiques complémentaires, notamment dans les cas où l'analyse des communautés de macroinvertébrés montre un score insatisfaisant. Les bioessais se montrent cependant importants car si aucune toxicité n'est observée, l'évaluation finale de la qualité des sédiments peut être surclassée de mauvaise à moyenne.

### 3.3.5 Allemagne

En Allemagne, les tests de contact sédiment sont recommandés pour évaluer les immissions des sites pollués (HLUG 2014). Les tests cités sont le test nématode, un test sur les embryons de poissons *Danio rerio* (ISO 2007b, Keiter et al. 2010), et le test de contact avec la bactérie *Arthrobacter globiformis* (ISO 2024). Pour la manipulation de matériaux de dragage (sédiments) contaminés dans les voies navigables fédérales (BfG 2017) les mêmes tests que pour tester les déchets sont proposés, c'est-à-dire sur les lixiviats de sédiments. Le concept allemand, testé par les autorités portuaires, des autorités responsables de dragages ou de gestionnaires de bassins versants (Ahlf et al. 2002), recommande d'utiliser une approche graduée dans laquelle les bioessais sont prioritaires par rapport aux analyses chimiques. Il y a aussi un volet approche écologique, mais l'ensemble des outils ne doit pas être appliqué systématiquement, cela dépend de l'objectif de l'étude. Dans une première phase, une batterie est proposée comprenant un test d'inhibition de la bioluminescence et un test de contact avec les sédiments bruts sur des bactéries. Dans une troisième phase, d'autres bioessais sont recommandés pour une évaluation plus approfondie, tel que le test nématode, le test chironome ou le test sur les œufs de poisson pour tester les sédiments bruts, et les tests avec le macrophyte *Lemna*, ou les tests modes d'action sur les lixiviats ou extraits (mutagénicité, génotoxicité, cytotoxicité, potentiel endocrinien).

### 3.3.6 France

En France, un guide propose une démarche graduée afin d'évaluer le danger potentiel relatif aux sites d'accumulation de sédiments d'eau douce, notamment en amont de travaux ou d'opérations susceptibles d'impliquer un curage, un dragage ou une remise en mouvement de sédiments potentiellement contaminés (Babut et al. 2016, Babut et al. 2019). Les tests comportent dans une première étape, la batterie de bioessais nématode, ostracode, bactérie, et chironomes, gammare, oligochètes, dans une deuxième. Ces batteries de test peuvent également être adaptées au diagnostic des causes de déclassement en mauvais état d'un site lors de suivi de qualité dans le contexte de la Directive Cadre sur l'Eau, et ainsi pourraient être adaptés à l'investigation des atteintes à l'environnement des sites contaminés liés aux eaux de surface. En revanche, si les sédiments dragués doivent être gérés à terre, ils sont considérés comme des déchets qu'il faut gérer selon la directive européenne « déchet » (voir 2.4.). Pour les sédiments,

si les concentrations en métaux, PCB, HAP et tributylétain dépassent des valeurs seuils, différents tests écotoxicologiques sont à réaliser sur l'eau interstitielle des sédiments, les lixiviats et la matrice solide (Mouvet 2013, Bataillard et al. 2017).

Les tests écotoxicologiques pour les échantillons de sédiment ont été regroupés dans le tableau suivant. On y retrouve la plupart des tests cités précédemment et d'autres tests standardisés ou en cours de standardisation (*Tab. 3*).

Tableau 3 : Liste non exhaustive de tests écotoxicologiques disponibles pour les échantillons de sédiments. Les cellules colorées en vert indiquent les tests cités dans le présent rapport. Adapté de (Vito 2024).

Groupe taxonomique	Organisme de test / Espèce	Effets	Standard / Référence
Producteurs primaires	<i>Nitzshia palea</i> (diatomées benthiques)	Inhibition de la croissance	Roig et al. 2015
	<i>Myriophyllum aquaticum</i> (macrophytes)	Inhibition de la croissance (biomasse, longueur)	ISO 16191 (ISO 2013b)
	<i>Myriophyllum spicatum</i> (macrophytes)		OECD 239 (OECD 2014)
	<i>Lemna gibba</i> , <i>Lemna minor</i> (lentilles d'eau)	Inhibition de la croissance	OECD 221 (OECD 2006), ISO 20079 (ISO 2005b)
	<i>S. saccharatum</i> , <i>L. sativum</i> , <i>S. alba</i> (plantes terrestres)	Germination et croissance (Phytotox kit)	ISO 18763 (ISO 2016)
Bactéries	<i>Arthrobacter globiformis</i>	Activité déshydrogénase	ISO 18187 (ISO 2024)
	<i>Aliivibrio fischeri</i>	Inhibition de luminescence	ISO 21338 (ISO 2010)
Macroinvertébrés benthiques	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nématodes)	Croissance et reproduction	ISO 10872 (ISO 2020)
	<i>Tubifex tubifex</i> (oligochètes)	Survie, croissance, production de cocons	ASTM E1706 (ASTM 2020)
	<i>Lumbricus variegatus</i> (oligochètes)	Croissance et reproduction	OECD 225 (OECD 2007)
	<i>Chironomus riparius</i> (insectes diptères)	Survie, croissance, taux et temps d'émergence, nombre de mâles et femelles	NF T 90-339-1 (AFNOR 2010), OECD 218 (OECD 2023a),
	<i>C. tentans</i> = <i>C. dilutus</i> (insectes diptères)		E1706 (ASTM 2020)
	<i>Chironomus sp.</i>	Reproduction, temps de développement, fertilité, taux d'éclosion, survie et émergence des générations suivantes	OECD 233 (OECD 2010), EPA100.5 (USEPA 2000)
	<i>Ephoron virgo</i> (Polymitarcydiae)	Survie et croissance	De Lange et al. 2005
<i>Hexagenia spp.</i> (Ephemeroidea)	Croissance et mue	ASTM E1706 (ASTM 2020)	

Tableau 3 (suite).

Groupe taxonomique	Organisme de test / Espèce	Effets	Standard / Référence
Macroinvertébrés épibenthiques	<i>Hyalella azteca</i> (crustacés amphipodes)	Survie et croissance	ISO 16303 (ISO 2013a)
		Survie et croissance, reproduction	Rapport RM/33 (Environnement_Canada 2017) EPA 100.4 (USEPA 2000), ASTM E1706 (ASTM 2020)
	<i>Gammarus sp.</i> (crustacés amphipodes)	Dosage de l'activité enzymatique acétylcholinestérase (AChE)	AFNOR XP T 90-722-1 (AFNOR 2020a)
		Mesure de marqueurs de reproduction	AFNOR XP T 90-722-2 (AFNOR 2020b)
		Encagement <i>in situ</i> pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques	AFNOR XP T 90-722-3 (AFNOR 2020c)
	<i>Heterocypris incongruens</i> (crustacés ostracodes)	Survie et croissance	ISO 14371 (ISO 2012d)
	<i>Potamopyrgus antipodarum</i> (mollusques)	Survie, reproduction (nombre d'embryons, utilisé comme indicateur de perturbation endocrinienne)	OECD 242 (OECD 2016)
Vertébrés (poissons)	<i>Brachydanio rerio</i> (larve/embryon poisson zèbre)	Survie, développement	DIN 38415-6 (Deutsches Institut 2003)

## 4 Conclusions sur le potentiel de l'application des tests écotoxicologiques

Selon la revue des guides et documents nationaux ci-dessus, nous avons vu que plusieurs pays ont déjà développé des concepts d'évaluation du risque écologique des sites pollués ou des programmes de biosurveillance incluant des tests écotoxicologiques, que ce soit pour les lixiviats et matrices aqueuses, ou pour les sédiments pollués.

- Dans la première partie, nous avons vu plusieurs études de cas qui ont mis en œuvre les recommandations de l'aide à l'exécution « Application de tests écotoxicologiques à des lixiviats de sites pollués » (OFEFP 1999). Toutefois, le recours aux bioessais en Suisse ne semble pas étendue et dépend de l'intérêt des gestionnaires, régulateurs ou propriétaires. Il serait néanmoins intéressant de regrouper, avec l'aide des offices cantonaux, des résultats d'études supplémentaires, et de faire un bilan de retours d'expériences.
- Au niveau international, nous avons vu par exemple que l'Allemagne et les Pays-Bas proposent l'utilisation de bioessais pour les lixiviats (de déchets et décharges ou sédiments dragués), les eaux souterraines ou de surface en lien avec les sites pollués. Seuls les bioessais sur les déchets sont réglementés par la directive cadre européenne sur les déchets (CE 2008).
- Pour les sédiments contaminés, les bioessais sont recommandés et utilisés depuis près de 20 ans en Amérique du Nord. Des exemples multiples peuvent être trouvés pour les États-Unis, que ce soit pour des problématiques liées aux substances organiques, PCB ou PFAS, les métaux ou les munitions. Une recherche bibliographique plus poussée pourrait se montrer intéressante, en incluant également le Canada.
- En Europe, la volonté de recourir à des tests écotoxicologiques pour la gestion des sédiments contaminés est plus récente. Des travaux sont en cours dans les agences réglementaires en Flandre belge et en Suède par exemple, avec lesquelles le Centre Ecotox échange par le biais de réseau d'experts et de groupes de travail (SedNet). Une implication des autorités suisses pourrait aider à l'avancement de ces travaux.

En raison des ressources limitées disponibles pour le projet, l'analyse de la littérature s'est concentrée sur les approches et cadres réglementaires nationaux et internationaux, tandis que la littérature scientifique n'a pas fait l'objet d'un examen exhaustif et que seuls quelques exemples sont présentés. Les exemples incluent des études de cas démontrant le potentiel de l'application des tests écotoxicologiques, le plus souvent dans une approche intégrée, combinant analyses chimiques, bioessais et études écologiques, dans le contexte des sites pollués (*Annexe*). Les bioessais y sont réalisés aussi bien pour évaluer le besoin d'assainissement (comparaison amont/aval) ou la surveillance avant, pendant ou après la prise de mesures.

Les différentes avancées récentes et motivées dans certains pays européens, ainsi que les nombreux retours d'expérience, au sein du Centre Ecotox ou dans la littérature, soutiennent que l'utilisation des tests écotoxicologiques pour évaluer les atteintes aux écosystèmes aquatiques des sites pollués est pertinente et prometteuse. En résumé, le tableau ci-dessous présente les objectifs, avec des exemples de tests, du recours aux bioessais pour évaluer le potentiel écotoxicologique des émissions et des immissions, mais aussi pour la surveillance et l'évaluation de l'efficacité des mesures dans le cadre du traitement des sites pollués (*Tab. 4*).

Tableau 4 : Objectifs et exemples de tests écotoxicologiques pour les différentes phases du traitement des sites pollués.

Phase de traitement	Approches écotoxicologiques	Émissions : lixiviats, eaux de percolation	Immissions : eaux de surface	Immissions : sédiments
<b>Détermination du potentiel écotoxicologique</b>	Batterie de bioessais dans une approche intégrée (analyses chimiques, bioaccumulation, communautés)	Tests de toxicité aiguë et chronique : par ex. bactéries, algues, daphnies, embryons de poissons + tests <i>in vitro</i> selon les polluants (par ex. oestrogénicité)	Tests de toxicité chronique : par ex. test algues combiné, daphnies, amphipodes, embryons poissons	Tests de toxicité chronique : par ex. ostracodes, chironomes, nématodes
<b>Évaluer le besoin d'assainissement d'un site pollué</b>	Utilisation de valeurs seuils pour la prise de décision (seuils de toxicité), intégration à l'évaluation analytique	Détermination de niveaux de dilution	Investigations amont / aval Éventuellement, ajout de tests <i>in vitro</i> à mode d'action spécifiques	
<b>Urgence et but d'assainissement</b>	Liés à l'objectif de protection mis en avant par l'évaluation écotoxicologique, pendant laquelle idéalement la cause de l'atteinte a été trouvée			
<b>Surveillance : évolution dans le temps</b>	Batterie de bioessais dans une approche intégrée (analyses chimiques, bioaccumulation, communautés)	À choisir en fonction des tests qui ont répondu lors de la phase d'investigation		
<b>Efficacité des mesures</b>				

Concernant la phase d'investigation, le potentiel écotoxicologique d'un site pollué combinant des tests écotoxicologiques sur les émissions (matrices aqueuses) et sur les immissions (eaux de surface, incluant les sédiments) pourrait aider à évaluer le besoin d'assainissement d'un site pollué. Une batterie de bioessais comprenant des tests de toxicité aiguë (par ex. les tests bactéries, embryons de poissons) et de toxicité chronique (par ex. la reproduction des daphnies), mais aussi un ou plusieurs tests *in vitro* (par ex. perturbation endocrinienne) permettrait d'évaluer les eaux de percolation ou les lixiviats. Pour les immissions, les tests recommandés reposent plutôt sur la toxicité chronique (effets à long terme), avec par ex. pour les sédiments la batterie de tests ostracodes, chironomes, nématodes (Tab. 4). Les batteries de tests doivent être appliqués en amont et en aval des sites pollués afin d'évaluer le besoin d'assainissement. Nous recommandons de les utiliser dans des approches intégrées combinant analyses chimiques (incluant par ex. des mesures de bioaccumulation des polluants dans les organismes), études des communautés dans les eaux et sédiments. Si les tests écotoxicologiques indiquent une forte toxicité (seuils à définir), le potentiel écotoxicologique du site est défini comme élevé, indiquant le besoin et l'urgence d'un assainissement. Si les polluants ne manifestent pas d'écotoxicité et que le potentiel est jugé faible, une analyse plus poussée pourrait être envisagée pour confirmer le diagnostic (par ex. tests de toxicité chronique ou à mode d'action spécifique supplémentaires). Dans le cas d'un potentiel écotoxicologique jugé moyen, les tests écotoxicologiques pourraient être mis en place pour la surveillance. Après la phase d'investigation de détail, le niveau de réponse d'une batterie de tests écotoxicologiques pourrait donc aider à prioriser les sites à assainir par la définition des délais d'assainissements.

Comme présenté dans l'aide à l'exécution sur les tests écotoxicologiques de 1999 (OFEFP 1999) puis en dans l'aide à l'exécution sur le déversement du lixiviat de décharges (Hermanns-Stengele & Moser 2012), les bioessais s'effectueraient en complément des analyses chimiques. Si les classements selon les analyses chimiques et selon les tests écotoxicologiques sont cohérents, la démarche peut se poursuivre selon l'OSites. En revanche, en cas d'incohérence, il faut envisager des analyses chimiques et/ou écotoxicologiques supplémentaires. Dans certaines phases de l'investigation ou de surveillance des sites pollués, il peut notamment être intéressant d'utiliser les résultats de tests écotoxicologiques comme système d'alerte ou de screening, afin d'orienter vers des analyses chimiques plus poussées. Les analyses dites « dirigées par l'effet » ou « effect-directed analysis » (EDA) pourraient également être envisagées. Elles promettent

d'identifier les composés toxiques responsables des effets biologiques à l'aide d'une démarche analytique guidée par des fractionnements physico-chimiques et des bioessais (CE 2014).

Pour l'évaluation dans le temps des sites, l'écotoxicité d'un point d'échantillonnage peut augmenter lors de la surveillance d'un site pour les raisons suivantes : une augmentation de la mobilité des polluants provoquée par un changement des caractéristiques physico-chimiques du site ou l'arrivée d'un front de pollution. Les tests écotoxicologiques peuvent donc être utilisés comme signal d'alarme indiquant qu'il devient nécessaire ou même urgent d'assainir le site. Dans ce cas, il faudra choisir des bioessais qui s'étaient montrés sensibles lors de la phase d'investigation.

Lors d'un assainissement, l'objectif est de rendre le site conforme aux critères fixés par l'OSites, c'est-à-dire d'empêcher les risques d'atteintes à l'environnement. Cela peut notamment être obtenu en réduisant la présence ou la biodisponibilité des polluants. Pendant l'assainissement, les tests peuvent donc renseigner de la bonne trajectoire des mesures. Les tests pourraient également se montrer utiles pour alerter d'une nuisance liée aux travaux, pouvant induire une pollution nouvelle, par exemple en alertant sur une biodisponibilité changée des substances problématiques lors de l'assainissement ou dans la surveillance dans le temps (voir exemples en Annexe).

En conclusion, nous avons vu dans ce rapport, que, dans le cas des sites pollués (qu'ils soient au bord, au-dessus ou dans une eau de surface) la valeur ajoutée des tests écotoxicologiques sur des échantillons liquides (extraits, lixiviats, eau souterraine ou eau de surface) ou des tests de contact direct sur sédiment seuls, ou en combinaison avec les approches chimiques et biologiques semblent indéniable. Les revues sur les bioessais aquatiques du Centre Ecotox (Kienle et al. 2015a) et du programme scientifique et technique AQUAREF (Manier et al. 2023), ainsi que le rapport en préparation en Flandre belge avec une évaluation précise des tests *in vivo* de contact pour les sédiments d'eau douce (Vito 2024) seront d'une grande aide pour supporter le choix des tests à l'avenir. Ce choix doit se faire tout en continuant les campagnes de biosurveillance ou de sites pollués pilotes. Le choix des tests écotoxicologiques dépend de plusieurs critères : des connaissances initiales du site (contaminants et niveaux d'exposition et d'effets attendus) mais aussi de l'objectif de l'étude. Chaque test peut cependant présenter des avantages et inconvénients dans leur mise en place, complexité, coût et interprétation et apporter des réponses spécifiques (toxicité aiguë ou chronique, mode d'action, sensibilité à certains polluants...).

Nous recommandons, en cas d'intérêt plus prononcé pour les approches écotoxicologiques, d'établir un groupe de travail alliant experts en sites pollués, eaux de surface (aussi protection contre les crues et renaturation) et écotoxicologie pour approfondir les questions abordées dans ce rapport. De plus, une enquête auprès des offices cantonaux afin d'inventorier leurs données et retours d'expérience devrait être envisagée. L'objectif à long terme serait de produire une nouvelle aide à l'exécution sur l'évaluation écotoxicologique des sites pollués avec un cadre d'interprétation solide, offrant une place aux bioessais et aux critères de qualité pour l'eau et les sédiments auprès des valeurs OSites déjà existantes. Nous recommanderions d'utiliser l'aide à l'exécution de 1999 comme point de départ. Les logigrammes décisionnels pourraient être adaptés, éventuellement simplifiés et être complétés ou dupliqués pour l'évaluation des eaux et des sédiments pollués. Pour cela, afin de tester des batteries de tests aquatiques et sur sédiments, des études de cas sur des sites pollués « pilotes » sont recommandées.

## 5 Références bibliographiques

- Abegglen C, Escher B, Hollender J, Koepke S, Ort C, Peter A, Siegrist H, von Gunten U, Zimmermann S, Koch M, Niederhauser P, Schäfer M, Braun C, Gälli R, Junghans M, Brocker S, Moser R, Rensch D (2009) Ozonung von gereinigtem Abwasser. Schlussbericht Pilotversuch Regensdorf, Eawag.
- AFNOR (2010) Qualité de l'eau – Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce vis-à-vis de *Chironomus riparius* - Partie 1 : sédiments naturels. NF T 90-339-1. Association Française de Normalisation.
- AFNOR (2020a) Qualité de l'eau — Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode) — Partie 1 : Dosage de l'activité enzymatique acétylcholinestérase (AChE). XP T 90-722-1. Association Française de Normalisation.
- AFNOR (2020b) Qualité de l'eau — Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode) — Partie 2 : Mesure de marqueurs de reproduction. XP T 90-722-2. Association Française de Normalisation.
- AFNOR (2020c) Qualité de l'eau — Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode) — Partie 3 : Mesure du taux d'alimentation. XP T 90-722-3. Association Française de Normalisation.
- AFNOR (2023) Qualité de l'eau — Encagement in situ de gammares pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques NF T90-721. Association Française de Normalisation.
- Ahlf W, Hollert H, Neumann-Hensel H, Ricking M (2002) A guidance for the assessment and evaluation of sediment quality: a German Approach based on ecotoxicological and chemical measurements. *Journal of Soils and Sediments* 2, 37-42.
- Alias C, Cioli F, Abbà A, Feretti D, Sorlini S (2024) Ecotoxicological assessment of waste foundry sands and the application of different classification systems. *Integrated Environmental Assessment and Management* 20, 2294-2311.
- Apitz S (2011) Integrated Risk Assessments for the Management of Contaminated Sediments in Estuaries and Coastal Systems. *Treatise on Estuarine and Coastal Science*. Ed. Wolanski E and McLusky DS 4, 311-338.
- Arrizabalaga P (1997) Etude des lixiviats de décharges: Approche écotoxicologique. . Rapport de la Commission internationale de protection des eaux du Léman, Campagne 1996: 203-225.
- ASTM (2020) Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates.
- Ausili A et al. (2022) Integrated sediment management. Guidelines and good practices in the context of the Water Framework Directive. *Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC)*.
- Babut M, Ferrari B, Durand C, Devin S, Colas F, Garric J, Charlatchka R, Ferard J-F (2016) Vers une démarche graduée d'évaluation écotoxicologique des sédiments fluviaux : présentation et premiers tests. *La Houille Blanche*, 85-100.
- Babut M, Stamm E, Garnier R (2019) Guide pour l'évaluation de la dangerosité des sédiments contaminés en eau douce. *Guides et protocoles Agence française pour la biodiversité* 41 p.
- Bataillard P, Michel P, Mossmann J-R, Lefebvre G, Hébrard C (2017) Caractérisation de la dangerosité des sédiments dragués et gérés à terre - principes et méthodes. Rapport final. BRGM/RP-67318-FR, 25.
- Beauvais R, Vivien R, Ferrari BJD, Casado-Martinez MC (2020) État des sédiments de canaux artificiels. *Aqua & Gas* 100, 73-81.
- Beauvais R, Casado C, Ferrari BJD (2024) Analyse des substances per- et polyfluoroalkylées (PFAS) dans les sédiments du Talent et de la Tioleire autour de la piste d'entraînement des sapeurs-pompiers de la Rama, Lausanne, Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, Lausanne.
- Becker R, Donnevert G, Römbke J (2007) Biologische Testverfahren zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen. Forschungsprojekt im Auftrag des Umweltbundesamtes FuE-Vorhaben Förderkennzeichen 206 33 302. Publikationen des Umweltbundesamtes.

- BfG (2017) Handlungsanweisung für den Umgang mit Baggergut aus Bundeswasserstraßen im Binnenland (HABAB-WSV 2017. Bundesamt für Gewässerkunde.
- Breedveld G, Ruus A, Bakke T, Kibsgaard A, Arp HP (2015) Veileder for risikovurdering av forurenset sediment - Guidelines for risk assessment of contaminated sediments. Norges geotekniske institutt, Norsk institutt for vannforskning 409, 106.
- Bundschuh M, Pierstorff R, Schreiber WH, Schulz R (2011) Positive effects of wastewater ozonation displayed by in situ bioassays in the receiving stream. *Environmental Science & Technology* 45, 3774-80.
- Carere M et al. (2021) Technical Proposal for Effect-Based Monitoring and Assessment under the Water Framework Directive.
- Casado-Martinez C, Beauvais R, Ferrari BJD, Cirelli S, Schaad EJ, Chiaia-Hernandez AC, Höss S, Loizeau J-L (2023) Évaluation de la qualité des sédiments. Projet pilote d'application d'une batterie de bioessais à l'échelle nationale. *Aqua & Gas* 103, 34-41.
- Casado C, Wildi M, Ferrari BJD, Werner I (2021) Stratégie d'évaluation de la qualité des sédiments en Suisse. Étude élaboré sur mandat de l'Office fédéral de l'environnement, Centre suisse d'écotoxicologie appliquée.
- CE (2000) Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- CE (2008) Directive 2008/98/CE du Parlement européen et du Conseil du 19 novembre 2008 relative aux déchets et abrogeant certaines directives (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE).
- CE (2010) Guidance on chemical monitoring of sediment and biota under the Water Framework Directive. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC), Guidance Document No. 25. Office for Official Publications in the European Communities, Luxembourg.
- CE (2018) European Technical Guidance document (TGD) for Deriving Environmental Quality Standards. Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 27. Technical Report-96 2011-055. Update 2018. Office for Official Publications in the European Communities, Luxembourg.
- CE (2022) Proposal for a DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL amending Directive 2000/60/EC establishing a framework for Community action in the field of water policy, Directive 2006/118/EC on the protection of groundwater against pollution and deterioration and Directive 2008/105/EC on environmental quality standards in the field of water policy.
- Chapman PM (1990) The sediment quality triad approach to determining pollution-induced degradation. *Science of The Total Environment* 97-98, 815-825.
- Chial B, Persoone G (2002) Cyst-based toxicity tests XIV--application of the ostracod solid-phase microbioassay for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium). *Environ Toxicol* 17, 533-7.
- Clément B (1994) La toxicité aiguë des lixiviats de décharge, apports respectifs et complémentarité des approches biologique et physico-chimique., Université de Savoie, France.
- Clément B, Guido P, Colin J, Le Dû-Delepierre A (1996) Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates—I. Determination of leachate toxicity with a battery of acute tests. *Chemosphere* 33, 2303-2320.
- Clément B, Colin JR, Anne LD-D (1997) Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates: 2. Comparison of physico-chemical characteristics of landfill leachates with their toxicity determined with a battery of tests. *Chemosphere* 35, 2783-2796.
- Connon RE, Geist J, Werner I (2012) Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. *Sensors (Basel)* 12, 12741-71.
- Coördinatiecommissie\_Integraal\_Waterbeleid (2020) Voorontwerp Vlaams sedimentbeheerconcept voor het Schelde- en Maasstroomgebiedsdistrict 2022-2027.
- de Deckere E, De Cooman W, Florus M, Devroede-Vander Linden M (2000) Characterising the beds of Flemish Watercourses: a Manual. Ministry of the Flemish Community and the Vlaamse Milieumaatschappij.

- De Lange HJ, De Haas EM, Maas H, Peeters ETHM (2005) Contaminated sediments and bioassay responses of three macroinvertebrates, the midge larva *Chironomus riparius*, the water louse *Asellus aquaticus* and the mayfly nymph *Ephoron virgo*. *Chemosphere* 61, 1700-1709.
- Deutsches Institut fN (2003) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) - Teil 6: Giftigkeit gegenüber Fischen; Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser auf die Entwicklung von Fischeiern über Verdünnungsstufen (T 6). DIN 38415-6.
- Deutsches Institut für Normung (1999) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 37: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (*Photobacterium phosphoreum*; Zellvermehrungs-Hemmtest) (L 37). DIN 38412-L37.
- Dilmi J, Bounenni R, Gervasi D, Howald C, Baumann S, Vermeirssen E (2023) Hormonaktive Flüssigkunststoffe in Bauabfällen Wie problematisch ist die Entsorgung von Flüssigkunststoffhaltigen Bauabfällen auf Deponien B? . Im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU).
- Environnement\_Canada (2008) Cadre décisionnel pour Canada-Ontario concernant l'évaluation des sédiments contaminés des Grands Lacs. En164-14/2007F-PDF.
- Environnement\_Canada (2017) Méthode d'essai biologique : Essai de survie, de croissance et de reproduction de l'amphipode dulcicole *Hyalella azteca* dans les sédiments et l'eau.
- Ferrari BJD, Vermeirssen E, Simon E, Bucher T, Santiago S (2017) Projet Kartox : Ecotoxicité des eaux issues d'exutoires karstiques évaluée à l'aide de tests *in vitro* et *in vivo*. Etude réalisée sur mandat de l'OFEV. Centre suisse d'écotoxicologie appliquée, Lausanne.
- Grelot J, Wunderlin P, Bleny H (2020) Abklärungen Verfahrenseignung Ozonung - Erkenntnisse aus mehrjährigen Erfahrungen. *Aqua & Gas*, 48-57.
- Hermanns-Stengele R, Moser R (2012) Exigences applicables au déversement du lixiviat de décharge. Recommandations relatives à son évaluation, à son traitement et à son déversement. Office fédéral de l'environnement, Berne. *L'environnement pratique* 1223, 62.
- Hin JA, Osté LA, Schmidt CA (2010) Methods to determine to what extent the realization of water quality objectives of a water system is impeded by contaminated sediments. Guidance Document for Sediment Assessment. Dutch Ministry of Infrastructure and the Environment.
- HLUG (2014) Ökotoxikologische Verfahren als Bewertungshilfe bei Altlastenverfahren. Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie. Handbuch Altlasten Band 3, Teil 8.
- Ingersoll CG, Steevens JA, MacDonald DD (2013) Evaluation of Toxicity to the Amphipod, *Hyalella azteca*, and to the Midge, *Chironomus dilutus*; and Bioaccumulation by the Oligochaete, *Lumbriculus variegatus*, with Exposure to PCB-Contaminated Sediments from Anniston, Alabama. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2013–5125.
- ISO (1995) Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la croissance de *Pseudomonas putida* (Essai d'inhibition de la multiplication des cellules de *Pseudomonas*). ISO 10712:1995.
- ISO (2000a) Qualité de l'eau — Détermination de la génotoxicité des eaux et des eaux résiduelles à l'aide de l'essai umu. ISO 13829:2000.
- ISO (2000b) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité à long terme de substances vis-à-vis de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). ISO 10706:2000.
- ISO (2005a) Qualité de l'eau — Détermination de la génotoxicité des eaux et des eaux résiduelles — Essai de *Salmonella/microsome* (essai d'Ames). ISO 16240:2005.
- ISO (2005b) Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique des constituants de l'eau et des eaux résiduelles vis-à-vis des lentilles d'eau (*Lemna minor*) — Essai d'inhibition de la croissance des lentilles d'eau. ISO 20079:2005.
- ISO (2007a) Qualité de l'eau — Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes). ISO 11348:2007.
- ISO (2007b) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité aiguë des eaux résiduelles vis-à-vis des oeufs de poisson-zèbre (*Danio rerio*) ISO 15088:2007.
- ISO (2008a) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Ceriodaphnia dubia*. ISO 20665:2008.

- ISO (2008b) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 h. ISO 20666:2008.
- ISO (2010) Qualité de l'eau — Détermination cinétique des effets inhibiteurs des échantillons de sédiment, autres solides et des échantillons colorés sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (essai cinétique de bactéries luminescentes). ISO 21338:2010.
- ISO (2011) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité aiguë envers *Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca). ISO 14380:2011.
- ISO (2012a) Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires. ISO 8692:2012.
- ISO (2012b) Qualité de l'eau — Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) — Essai de toxicité aiguë. ISO 6341:2012.
- ISO (2012c) Qualité de l'eau — Évaluation de la génotoxicité des eaux résiduaires — Essai de *Salmonella/microsome* (essai d'Ames-fluctuation). ISO 11350:2012.
- ISO (2012d) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce envers *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda). ISO 14371:2012. International Organization for Standardization.
- ISO (2013a) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité des sédiments d'eau douce vis-à-vis de *Hyalella azteca*. ISO 16303:2013.
- ISO (2013b) Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique des sédiments sur la croissance de *Myriophyllum aquaticum*. ISO 16191:2013.
- ISO (2016) Qualité du sol — Détermination des effets toxiques des polluants sur la germination et les premiers stades de croissance des végétaux supérieurs. ISO 18763:2016.
- ISO (2017a) Qualité du sol — Procédure d'évaluation des risques écologiques spécifiques au site de la contamination des sols (approche TRIADE de la qualité du sol). ISO 19204:2017.
- ISO (2017b) Qualité de l'eau — Détermination des effets d'inhibition sur la croissance de la lentille d'eau *Spirodela polyrhiza* par les eaux usées, les eaux naturelles et les produits chimiques — Méthode utilisant un bioessai miniaturisé indépendant d'une culture mère. ISO 20227:2017.
- ISO (2018a) Qualité de l'eau — Détermination du potentiel œstrogène de l'eau et des eaux résiduaires. Partie 2: Test d'œstrogénicité (A-YES, *Arxula adenivorans*). ISO 19040-2:2018.
- ISO (2018b) Qualité de l'eau — Détermination du potentiel oestrogène de l'eau et des eaux résiduaires. Partie 3: Essai *in vitro* sur cellules humaines avec gène rapporteur. ISO 19040-3:2018.
- ISO (2018c) Qualité de l'eau — Détermination du potentiel œstrogénique de l'eau et des eaux résiduaires. Partie 1: Essai d'œstrogénicité sur levures (*Saccharomyces cerevisiae*). ISO 19040-1:2018.
- ISO (2019) Qualité de l'eau — Détermination de la toxicité aiguë d'échantillons d'eau et de produits chimiques vis-à-vis de la lignée cellulaire de branchies de poissons (RTgill-W1). ISO 21115:2019.
- ISO (2020) Qualité de l'eau et du sol — Détermination de l'effet toxique d'échantillons de sédiment et de sol sur la croissance, la fertilité et la reproduction de *Caenorhabditis elegans* (Nematodes). ISO 10872:2020
- ISO (2024) Qualité du sol — Essai contact pour échantillons solides utilisant l'activité déshydrogénase de *Arthrobacter globiformis*. ISO 18187:2024.
- Keiter S, Peddinghaus S, Feiler U, von der Goltz B, Hafner C, Ho NY, Rastegar S, Otte JC, Ottermanns R, Reifferscheid G, Strähle U, Braunbeck T, Hammers-Wirtz M, Hollert H (2010) DanTox—a novel joint research project using zebrafish (*Danio rerio*) to identify specific toxicity and molecular modes of action of sediment-bound pollutants. *Journal of Soils and Sediments* 10, 714-717.
- Kienle C, DiPaolo C, Tropiano D, Santiago S (2009) Ökotoxikologische Beurteilung des Sickerwassers einer Deponie, Oekotoxzentrum, Eawag/EPFL.
- Kienle C, Kase R, Werner I (2011) Evaluation of bioassays and wastewater quality. *In vitro* and *in vivo* bioassays for the performance review in the project "Strategy micropoll", Swiss Centre for Applied Ecotoxicology (Ecotox Centre), Eawag-EPFL
- Kienle C, Gauch R, Vermeirssen E, Werner I (2015a) Methoden zur Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests. Ergebnisse einer

- Literaturrecherche und einer Expertenbefragung, Oekotoxzentrum, Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL.
- Kienle C, Kase R, Schärer M, Werner I (2015b) Ökotoxikologische Biotests. Anwendung von Biotests zur Evaluation der Wirkung und Elimination von Mikroverunreinigungen. *Aqua & Gas* 95, 18-26.
- Kienle C, Vermeirssen E, Kunz P, Werner I (2015c) Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU), Oekotoxzentrum, Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL.
- Kienle C, Vermeirssen ELM, Schifferli A, Singer H, Stamm C, Werner I (2019) Effects of treated wastewater on the ecotoxicity of small streams – Unravelling the contribution of chemicals causing effects. *PLOS ONE* 14, e0226278.
- Kienle C, Werner I, Fischer S, Lüthi C, Schifferli A, Besselink H, Langer M, McArdell CS, Vermeirssen ELM (2022) Evaluation of a full-scale wastewater treatment plant with ozonation and different post-treatments using a broad range of *in vitro* and *in vivo* bioassays. *Water Research* 212, 118084.
- Kienle C, Beauvais R, Casado-Martinez C, Voisin A-S, Werner I, Vermeirssen E, Ferrari B (2023a) Ökotoxikologische Biotests und -marker. Biologische effektbasierte Methoden zur Beurteilung der Wasser- und Sedimentqualität. *Aqua & Gas* 103, 18-22.
- Kienle C, Bramaz N, Schifferli A, Olbrich D, Werner I, Vermeirssen E (2023b) Beurteilung der Wasserqualität mit einer Biotestbatterie. *Aqua & Gas* 103, 24-33.
- Kienle C, Bramaz N, Bürgmann H, Christen V, Fischer M, Langer M, Okoniewski N, Schifferli A, Schirmer K, Vivien R, Wälchli D, Züger D, Vermeirssen E, Ferrari B (2024) Effektbasierte Wirkungskontrolle der Dünnern vor und nach Ausbau der ARA Falkenstein – Untersuchungen vor Ausbau. , Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie, Dübendorf.
- Kizgin A, Schmidt D, Joss A, Hollender J, Morgenroth E, Kienle C, Langer M (2023) Application of biological early warning systems in wastewater treatment plants: Introducing a promising approach to monitor changing wastewater composition. *Journal of Environmental Management* 347, 119001 (12 pp.).
- Kizgin A, Schmidt D, Bosshard J, Singer H, Hollender J, Morgenroth E, Kienle C, Langer M (2024) Integrating Biological Early Warning Systems with High-Resolution Online Chemical Monitoring in Wastewater Treatment Plants. *Environmental Science & Technology* 58, 23148-23159.
- Loi fédérale sur la protection de l'environnement (Loi sur la protection de l'environnement, LPE) du 7 octobre 1983. RS 814.01.
- LUBW (2004a) Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall – Literaturstudie. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg.
- LUBW (2004b) Ökotoxikologische Charakterisierung von Abfall – Verfahrensentwicklung für die Festlegung des Gefährlichkeitskriteriums „ökotoxisch (H14)“. Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg.
- Manier N, Ait-Aïssa S, Pandard P (2023) Inventaire et évaluation des méthodes biologiques issues de l'écotoxicologie en vue de leur utilisation dans le cadre de la DCE. Rapport AQUAREF, 66 p.
- Margot J, Kienle C, Magnet A, Weil M, Rossi L, de Alencastro LF, Abegglen C, Thonney D, Chèvre N, Schärer M, Barry DA (2013) Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? *Science of The Total Environment* 461-462, 480-498.
- MELCCFP\_Canada (2016) Guide de caractérisation physico-chimique et toxicologique des sédiments. Ministère du développement durable, de l'environnement et de la lutte contre les changements climatiques.
- Mouvet C (2013) Test du protocole d'écotoxicologie (critère H14) pour l'évaluation du caractère dangereux de sédiments destinés à une gestion à terre. Rapport final. BRGM/RP-61420-FR, 51.
- OECD (1992) Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test.
- OECD (2006) Test No. 221: *Lemna sp.* Growth Inhibition Test
- OECD (2007) Test No. 225: Sediment-Water *Lumbriculus* Toxicity Test Using Spiked Sediment

- OECD (2010) Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment.
- OECD (2013) Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test.
- OECD (2014) Test No. 239: Water-Sediment *Myriophyllum spicatum* toxicity Test.
- OECD (2016) Test No. 242: *Potamopyrgus antipodarum* Reproduction Test.
- OECD (2021) Test No. 455: Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation *In Vitro* Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists and Antagonists.
- OECD (2023a) Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment.
- OECD (2023b) Test No. 458: Stably Transfected Human Androgen Receptor Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist and Antagonist Activity of Chemicals.
- OFEFP (1999) Application de tests écotoxicologiques à des lixiviats de sites pollués. L'environnement pratique 220, 41.
- OFEFP (2000) Cahier des charges pour l'investigation technique des sites pollués. L'environnement pratique VU-3406-F, 24.
- Ordonnance sur l'assainissement des sites pollués (Ordonnance sur les sites contaminés, OSites) du 26 août 1998. RS 814.680.
- Ordonnance sur la protection des eaux (OEaux) du 28 octobre 1998. RS 814.201.
- OFEV (2020) Sites pollués et eaux de surface. Généralités et aide pour le traitement des sites pollués. L'environnement pratique 2015, 60.
- OSPAR (1992) Convention du 22 septembre 1992 pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-Est (RS 0.814.293).
- OSPAR (2007) Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. OSPAR Commission.
- OVAM (2022) Examination of water bottom and banks - Code of good practice. [www.ovam.be](http://www.ovam.be).
- Pronk TE, de Baat ML, van der Berg SJP, van der Oost R (2021) Achtergronddocument Basis-Set Bioassay Selectie. Achtergronddocument beschikbare kennis bij de sleutelfactor Toxiciteit. Versie 1, 21 december 2021. . KIWK-Toxiciteit Notitie. Amersfoort, Nederland. Kennis Impuls Water Kwaliteit.
- Roig N, Sierra J, Nadal M, Moreno-Garrido I, Nieto E, Hampel M, Gallego EP, Schuhmacher M, Blasco J (2015) Assessment of sediment ecotoxicological status as a complementary tool for the evaluation of surface water quality: the Ebro river basin case study. Science of The Total Environment 503, 269-278.
- Salomons W, Brils J, contractors S, Panel SS, participants S (2004) Contaminated Sediments in European River Basins. European Sediment Research Network.
- Santiago S, Becker van Slooten K, Chèvre N, Pardos M, Bennighoff C, Dumas M, Thybaud E, Garrivier F (2002) Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. Groupe de travail Tests écotoxicologiques de la CIPEL.
- Santiago S (2004) Suivi analytique des eaux liées à la décharge (Combe-de-Ville, Sainte-Croix, Vaud). Rapport d'analyses 2001-2003, Soluval Santiago.
- Scheibel H-J, Harborth PDB, Lang E, Hanert HHPD (1991) Einsatz des Leuchtbakterien- und Daphnien-tests zur toxikologischen Bewertung von Grundwasser- und Bodenreinigung bei der Altlastensanierung.
- Schindler Wildhaber Y, Mestankova H, Schärer M, Schirmer K, Salhi E, von Gunten U (2015) Novel test procedure to evaluate the treatability of wastewater with ozone. Water Research 75, 324-335.
- Severin M, Josefsson S, Nilsson P, Ohlsson Y, Stjärne A, Wernersson A-S (2018) Förorenade sediment-behov och färdplan för en renare vattenmiljö. Uppsala, SE: Taylor & Francis Online.
- Stalter D, Magdeburg A, Weil M, Knacker T, Oehlmann J (2010) Toxication or detoxication? In vivo toxicity assessment of ozonation as advanced wastewater treatment with the rainbow trout. Water Research 44, 439-48.
- Sternbeck J, Aquilonius K, Josefsson K, Marelus F, Petsonk A (2008) Strategi för miljöriskbedömning av förorenade sediment. "Stratégie d'évaluation des risques environnementaux liés aux sédiments contaminés". Naturvårdsverket rapport 5886.

- UBA (2013) Handlungsempfehlung zur ökotoxikologischen Charakterisierung von Abfällen. Deutsche Umweltbundesamt.
- USEPA (1997) Ecological Risk Assessment Guidance for Superfund: Process for Designing and Conducting Ecological Risk Assessments. EPA540-R-97-006. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC.
- USEPA (1999) Ecological risk assessment and risk management principles for Superfund sites. EPA540-R-97-006. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Emergency and Remedial Response. Washington DC. OSWER Directive 9285.7, 28.
- USEPA (2000) Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. EPA 600/R-99/064. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development Mid-Continent Ecology Division, Duluth, Minnesota and Office of Science and Technology, Office of Water. Washington, D.C.
- van der Burg B, van der Linden S, Man H-y, Winter R, Jonker L, van Vugt-Lussenburg B, Brouwer A (2013) A Panel of Quantitative Calux® Reporter Gene Assays for Reliable High-Throughput Toxicity Screening of Chemicals and Complex Mixtures, High-Throughput Screening Methods in Toxicity Testing, pp. 519-532.
- Vito (2024) Ecotoxicologisch onderzoek waterbodem – voorstel pilootstudie. "Étude écotoxicologique du sédiment - proposition d'étude pilote" Draft rapport – fase I van project. Studie uitgevoerd in opdracht van OVAM.
- Voisin A-S, Fasel M, Beauvais R, Kienle C, Ferrari B, Werner I (2023) Un outil biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'eau avec la truite de rivière. *Aqua & Gas* 103, 42-48.
- Völker J, Stapf M, Miehe U, Wagner M (2019) Systematic Review of Toxicity Removal by Advanced Wastewater Treatment Technologies via Ozonation and Activated Carbon. *Environmental Science & Technology* 53, 7215-7233.
- Wernersson AS, Maggi C, Carere M. Technical report on aquatic effect-based monitoring tools. Technical Report 2014–077. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities; 2014.
- Wunderlin P, Mestankova H, Salhi E, Schindler Wildhaber Y, Schärer M, Schirmer K, von Gunten U (2015) Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon. Testverfahren zur Beurteilung. *Aqua & Gas* 95, 28-38.

## Annexe : Exemples d'études scientifiques sur l'assainissement et la surveillance des sédiments pollués.

Contexte	Tests écotoxicologiques	Conclusions	Références
<b>Besoin d'assainissement / comparaison amont-aval</b> Tannerie au Brésil forte pollution des sédiments au chrome	Approche triade : test mortalité avec chironome <i>Chironomus xanthus</i> et reproduction daphnie <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> , communautés macrofaune benthique, analyses chimiques	Les sédiments contaminés ont induit la mortalité des chironomes et des déformations du mentum, prouvant une mise en danger des organismes benthiques.	Alves & Rietzler 2015
<b>Choix de l'assainissement / efficacité des mesures</b> Test de bioremédiation de sédiments d'eau douce contaminés artificiellement au pétrole brut au Québec, Canada	Mortalité et inhibition de la croissance <i>H. incongruens</i> Mortalité et inhibition de la croissance <i>H. azteca</i>	Le test ostracode s'est montré au moins aussi sensible que le test amphipode. Outil efficace pour tester différents traitements. La mortalité des organismes diminue avec le temps post-traitement.	Chial et al. 2003
<b>Efficacité des mesures</b> Remédiation microbienne de sédiments contaminés aux métaux	Mortalité, inhibition de la croissance, de la reproduction, apoptose de la lignée germinale et bioaccumulation des métaux chez <i>C. elegans</i>	Les bioessais, en accord avec l'évaluation du risque écologique, ont montré une baisse de toxicité après assainissement.	How et al. 2023
<b>Choix de l'assainissement</b> Décontamination des sédiments du port industriel de Venise	Test bioluminescence Microtox® de contact avec <i>Vibrio fischeri</i> and test sur la survie et malformations des embryons des huîtres <i>Crassostrea gigas</i> (test sur les élutriats)	Certaines des technologies testées n'ont pas réussi à diminuer significativement la toxicité des sédiments, lié potentiellement à la mobilité, biodisponibilité de la pollution restante.	Libralato et al. 2018
<b>Efficacité des mesures</b> Suivi du potentiel écotoxicologique après arrêt des émissions d'effluents industriels	Approche triade pour comparer des sites avec des niveaux de contamination croissants et site de référence : tests de mortalité et de bioaccumulation (laboratoire) et richesse de la macrofaune benthique.	Malgré l'arrêt des rejets, les sédiments restent contaminés 10 ans après, induisant mortalité, bioaccumulation en métaux et altération des communautés en place.	Lopes et al. 2014
<b>Surveillance</b> Atteinte des sédiments par suite de panaches d'eaux souterraines et de décharges polluées	Test in situ de survie avec <i>H. azteca</i> et <i>C. riparius</i> (cages immergées en partie dans le sédiment)	Résultats prometteurs mais qui devraient être complétés par des tests en laboratoire et des analyses chimiques.	Roy & Grapentine 2024

## Annexe (suite).

Contexte	Tests écotoxicologiques	Conclusions	Références
<b>Surveillance après assainissement</b> Utilisation de la méthode TIE pour « toxicity identification evaluation » après l'assainissement d'une rivière hautement polluée	Combinaison d'analyses chimiques et test <i>in vivo</i> . Ici, utilisation du test de toxicité aigüe avec <i>H. azteca</i> sur les sédiments et l'eau interstitielle	L'approche a permis d'identifier les composés toxiques restants après l'assainissement, à savoir l'ammoniac, les métaux et les HAP dans les eaux interstitielles.	Wang et al. 2021
<b>Besoin d'assainissement / efficacité des mesures.</b> Sédiments de voies navigables pollués en métaux et HAP à Amsterdam, NL ; alors que les sources de pollution ont été traitées ou assainies, aucune amélioration nette en 10 ans	25 échantillons sédiments ont été testés sur 4 organismes dans des tests de toxicité chronique	Des effets graves ont été observés chez les ostracodes, les chironomes et les vers, dont la survie, la croissance ou la reproduction ont été réduites de plus de 50 %. Il a été conclu que toute intervention pour remédier/ôter le sédiment contaminé aura un effet bénéfique sur la vie benthique.	Projet mené par Ecofide (OVAM 2022)
<b>Après assainissement</b> Sédiments contaminés aux PCB	La première phase d'assainissement des sédiments a permis de réduire les concentrations de PCB sur le site. Bien que les sédiments ne soient plus létaux, des effets sublétaux des contaminants présents dans les sédiments de ce site ont été observés sur les amphipodes lors d'expositions à long terme (associées à des concentrations élevées de métaux, de PCB et de HAP).		Kemble et al. 2000

## Références

- Alves RH, Rietzler AC (2015) Ecotoxicological evaluation of sediments applied to environmental forensic investigation. *Brazilian Journal of Biology* 75, 886-893.
- Chial BZ, Persoone G, Blaise C (2003) Cyst-based toxicity tests. XVIII. Application of ostracodtoxkit microbiotest in a bioremediation project of oil-contaminated sediments: sensitivity comparison with *Hyalella azteca* solid-phase assay. *Environmental Toxicology* 18, 279-83.
- How CM, Kuo Y-H, Huang M-L, Liao VH-C (2023) Assessing the ecological risk and ecotoxicity of the microbially mediated restoration of heavy metal-contaminated river sediment. *Science of The Total Environment* 858, 159732.
- Kemble NE, Hardesty DG, Ingersoll CG, Johnson BT, Dwyer FJ, MacDonald DD (2000) An Evaluation of the Toxicity of Contaminated Sediments from Waukegan Harbor, Illinois, Following Remediation. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39, 452-461.
- Libralato G, Minetto D, Lofrano G, Guida M, Carotenuto M, Aliberti F, Conte B, Notarnicola M (2018) Toxicity assessment within the application of in situ contaminated sediment remediation technologies: A review. *Science of The Total Environment* 621, 85-94.
- Lopes ML, Rodrigues AM, Quintino V (2014) Ecological effects of contaminated sediments following a decade of no industrial effluents emissions: The Sediment Quality Triad approach. *Marine Pollution Bulletin* 87, 117-130.
- OVAM (2022) Examination of water bottom and banks - Code of good practice. [www.ovam.be](http://www.ovam.be).
- Roy JW, Grapentine L (2024) Insights into *In Situ* Benthic Caging Tests for Ecotoxicity Assessments Targeting Discharging Groundwater Contaminant Plumes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 87, 78-93.
- Wang BR, Dahms HU, Wu MC, Jhuo NJ, Hsieh CY (2021) After remediation - Using toxicity identification evaluation of sediment contamination in the subtropical Erren river basin. *Chemosphere* 262, 127772.