

Conférence - Débat
LES SEDIMENTS
Lyon, 29 septembre 2011

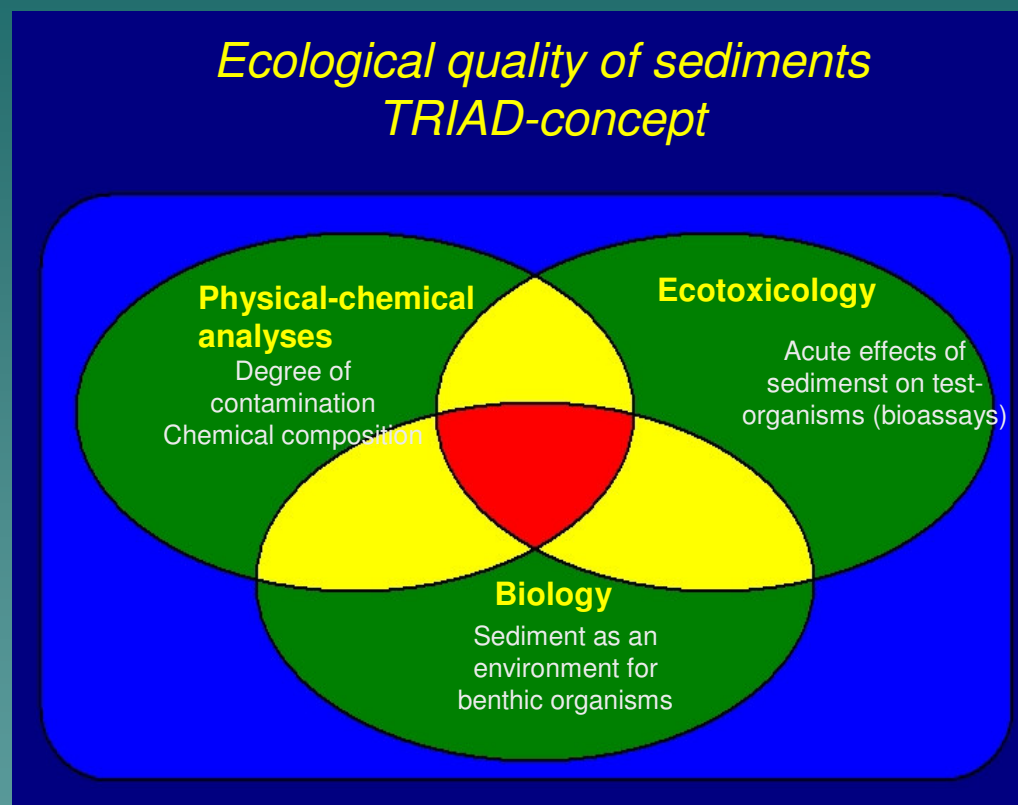
Les microbiotests : un outil de choix pour l'évaluation de la toxicité des sédiments

Persoone Guido

- *Professeur émérite – Laboratoire d'Ecotoxicologie et d'Ecologie Aquatique, Université de Gand, Belgique*
- *Conseiller scientifique - MicroBioTests S.A., Mariakerke, Belgique*

Concept de la TRIADE

pour l'évaluation de la qualité écologique des sédiments



LES TESTS DE TOXICITE

*donnent un signal pour
l'impact de tous les polluants
qui sont presents dans
l'échantillon analysé*



Tests de toxicité conventionnels sur les sédiments:

- Test croissance des algues (72h)
- Test immobilisation *Daphnia magna* (24h-48h)
- Test de contact *Hyalella azteca*
- Test de contact plantes supérieures

Culture des micro-algues



Infrastructure
Place
Travail



Inoculation des récipients
avec des micro-algues



Incubation des récipients



PROCEDURE DU TEST ALGUES

Infrastructure
Place
Travail



Dénombrement quotidien des algues

La puce d'eau *Daphnia magna*



Culture des Daphnies

Maintien quotidien



Alimentation quotidienne
avec des algues



Infrastructure

Place

Travail



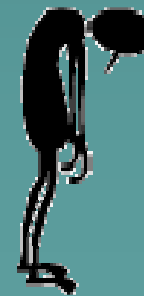
Test de contact *Hyaella azteca*



2 mm

Culture stock du crustacé
amphipode *Hyaella azteca*

Infrastructure
Place
Travail



Equipment et place



Infrastructure
Place
Travail



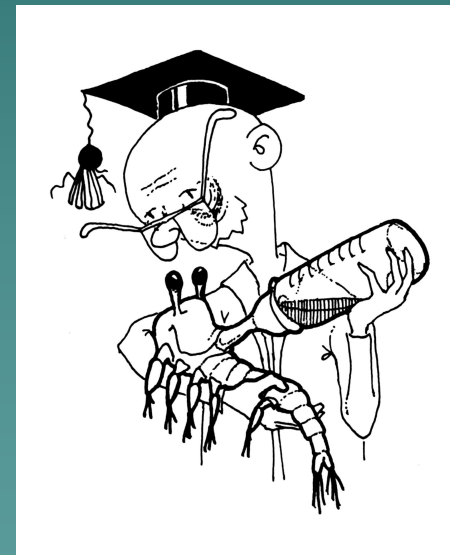
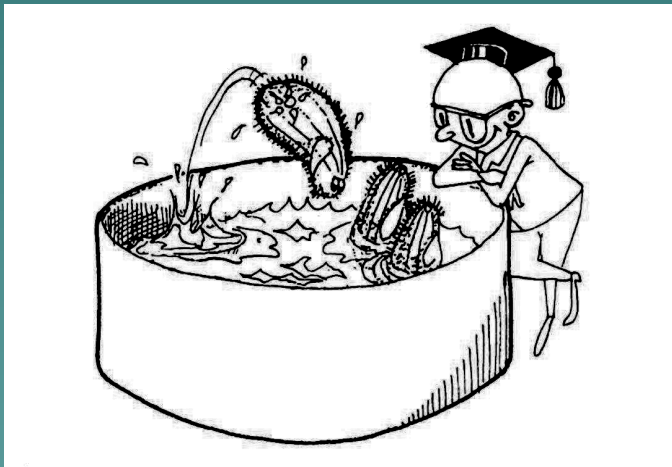
EXECUTION DU TEST

Manipulations



Handicap majeur des tests de toxicité conventionnels :

*Dependance de la culture et du maintien (quotidien)
des stocks vivants des espèces test*



Infrastructure

Place

Travail

Coûts



Tests de toxicité avec des plantes supérieures

Tests en pots (tests de contact direct)

Durée de plusieurs semaines

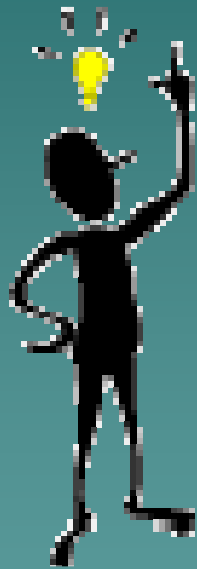
Manipulations extensives



Place
Travail
Temps



MICROBIOTESTS



comme alternatives aux
tests de toxicité
“conventionnels”

Développement de microbiotests (1980-2000) au Laboratoire d'Ecotoxicologie et Ecologie Aquatique à l'Université de Gand en Belgique

Approche fondamentale :

Utilisation des stades de dormance

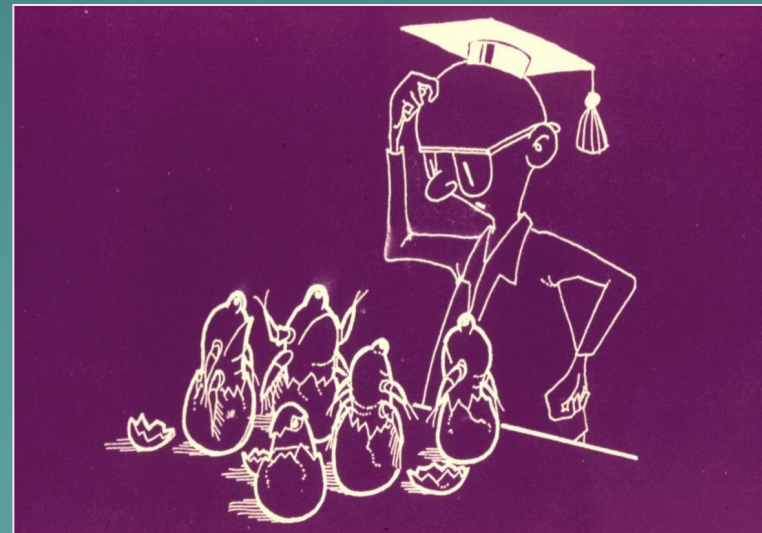
ou de stades immobilisés

des organismes test

desquels on peut obtenir

les espèces test

“à la demande”



Les microbiotests TOXKITS

Développement de la technologie

- Convivial
- Peu coûteux
- Miniaturisé



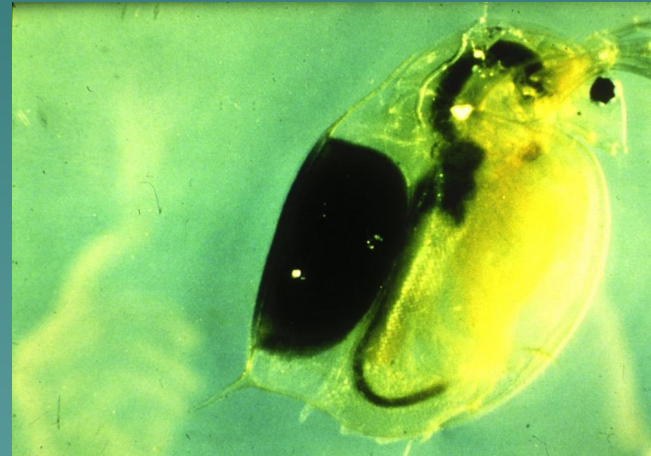
Daphnia magna

Daphnia magna avec oeufs



Reproduction parthénogénétique

Daphnia magna avec capsule (ephippie)
contenant 2 oeufs de dormance



Reproduction sexuelle

Production contrôlée des oeufs de dormance – stockage - éclosion

Ephippie



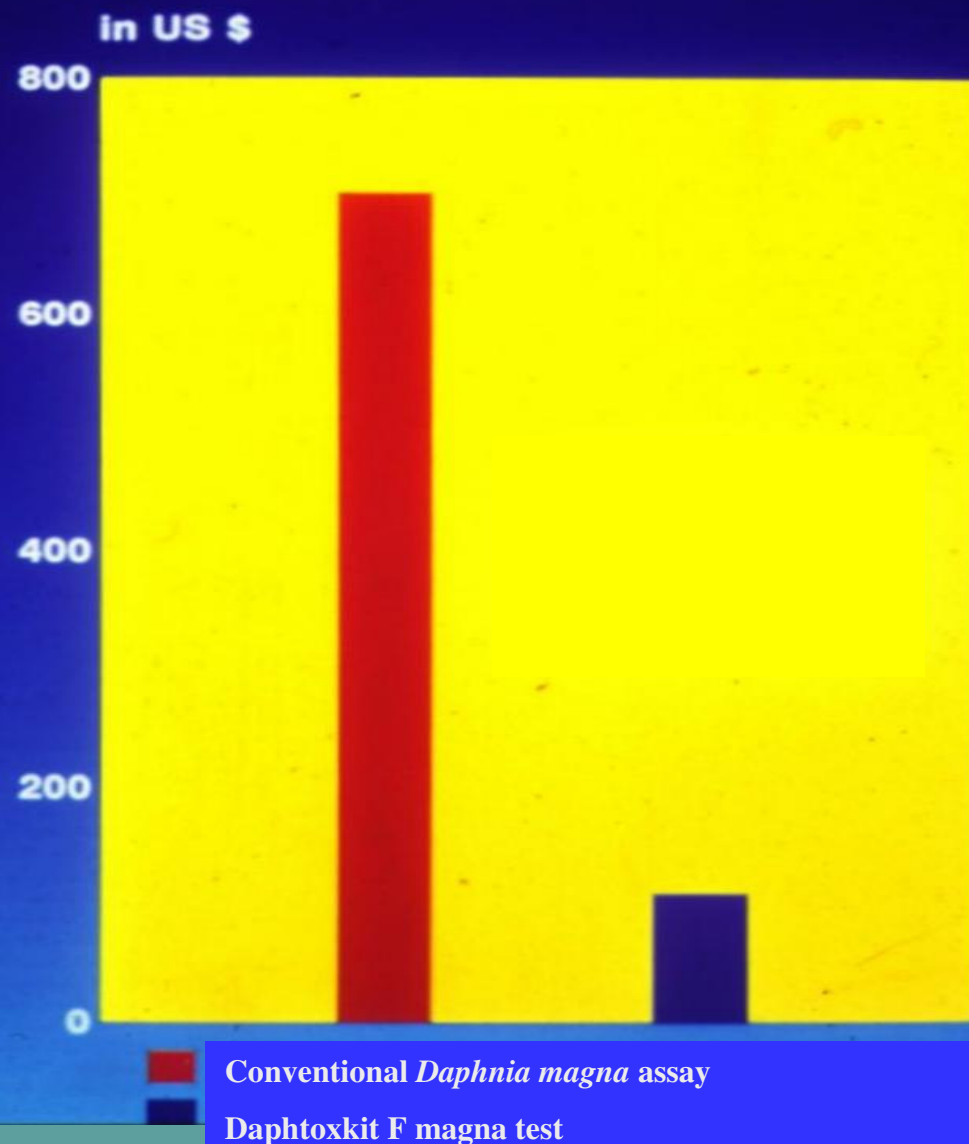
Daphnies éclos d'une ephippie
“et prêts à l'emploi”



- Plus besoin de cultiver/maintenir des stocks vivants de *Daphnia magna*
- Les oeufs de dormance peuvent être conservés
- Les oeufs de dormance peuvent être éclos “à la demande”

Daphtoxkit F magna

Cost price conventional *Daphnia magna* assay vs. Daphtoxkit F test



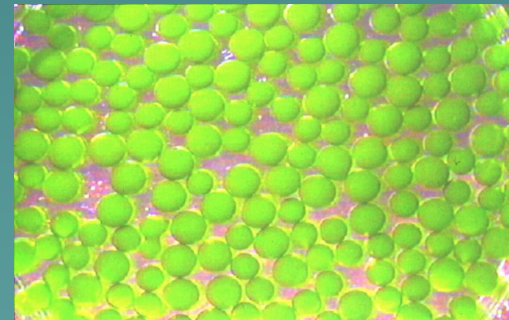
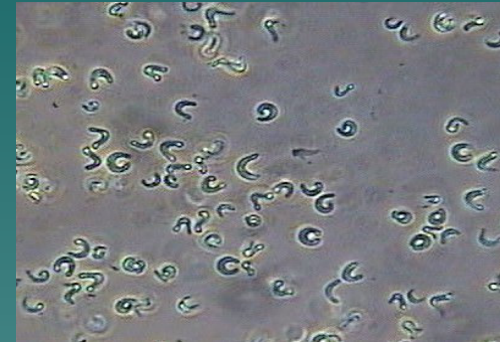
Microbiotest avec algues

Micro-algues
(*Pseudokirchneriella subcapitata*)



Billes d'algues
(1 million de cellules par ml)

40-50 μm

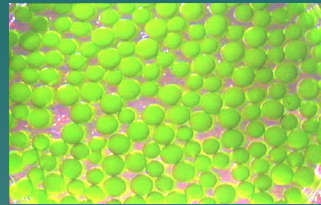


1-2 mm

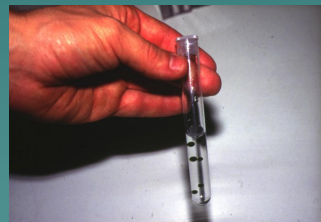
Microbiotest avec algues

Algaltokit

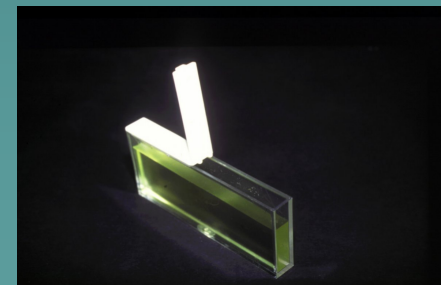
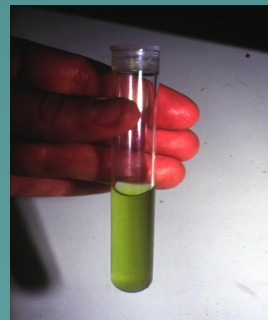
Micro-algues
immobilisées dans
des billes d'algues



Billes d'algues
mis dans une
éprouvette

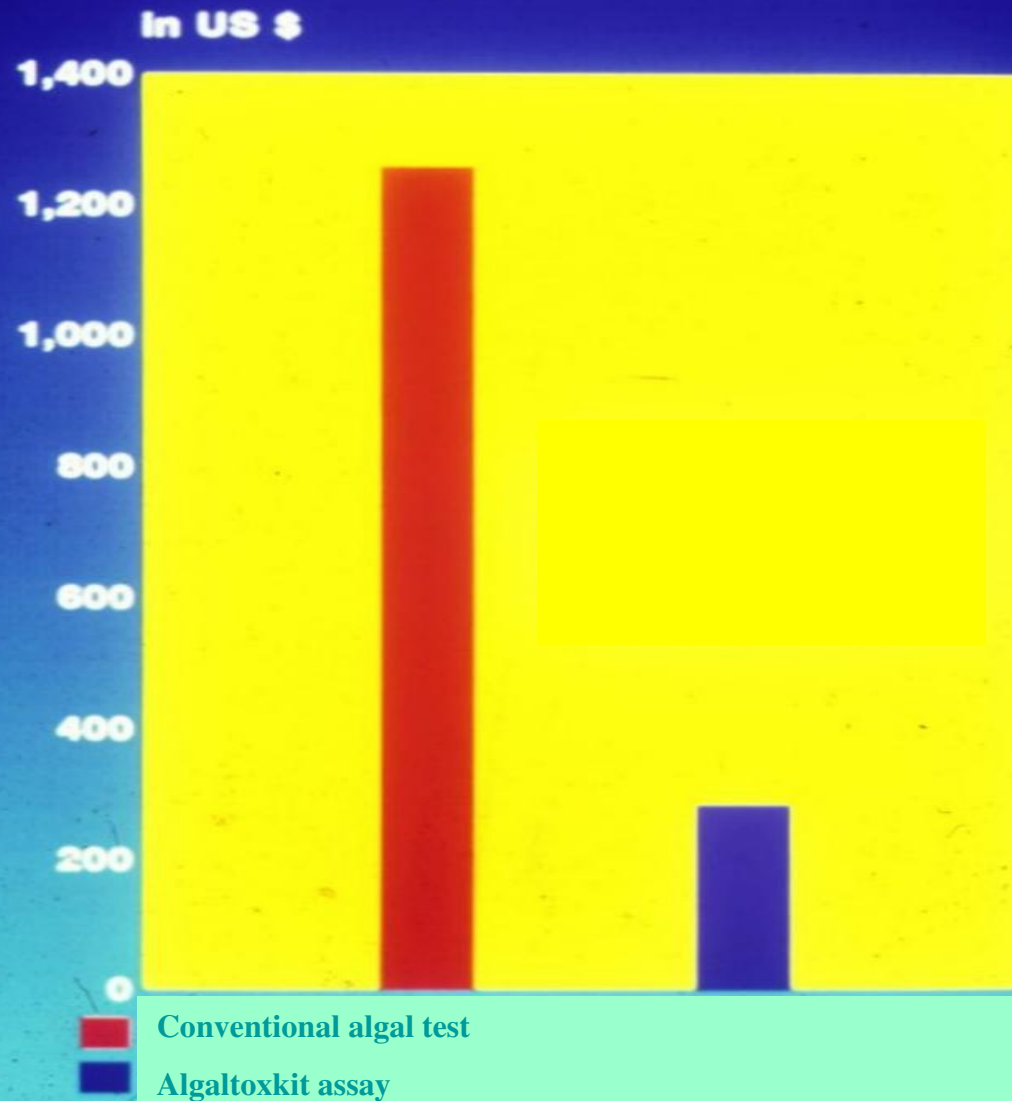


De-immobilisation
des micro-algues



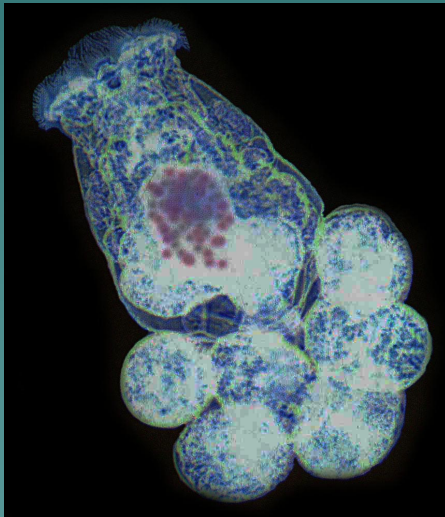
“Long cells” comme
récipients pour les
tests

Cost price conventional algal growth inhibition test vs. Algaltoxkit F assay



Microbiotests Rotoxkit

avec les rotifères *Brachionus calyciflorus* (eaux douces) et *Brachionus plicatilis* (milieux estuariens et marins)



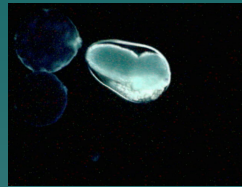
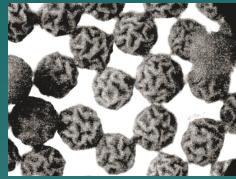
Test aigu
(24h)



Test chronique
(48h)



Microbiotest Thamnotoxkit



300 µm

Test aigu (24h) avec des larves du crustacé *Thamnocephalus platyurus* éclos de kystes (oeufs de dormance)

**Sensibilité similaire à *Daphnia magna*
et utilisé couramment comme alternative
du test aigu avec *Daphnia magna***



Thamnotoxkit

Microbiotest Ostracodtoxkit

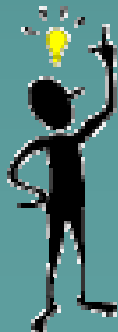


150-200 µm

Test “subchronique” (6 jours) de mortalité et d’inhibition de la croissance des larves du crustacé ostracode *Heterocypris incongruens*, éclos de kystes (oeufs de dormance)



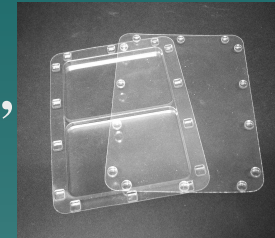
Ostracodtoxkit



Developpé specifiquement pour les sédiments
comme test de “contact direct”

Microbiotest pour mesurer la phytotoxicité

1. Plaques transparentes pour une croissance “uni-dimensionnelle” des racines et des tiges des plantes



2. Incubation des plaques en position verticale



3. Mesure automatique de la longueur des racines et des tiges, et traitement des données par analyse d'image



Le microbiotest Phytotoxkit



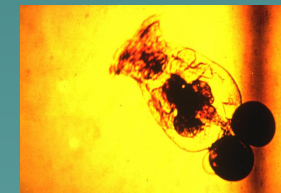
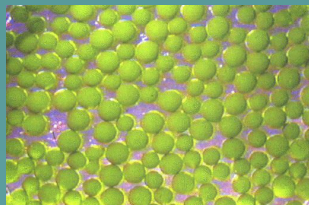
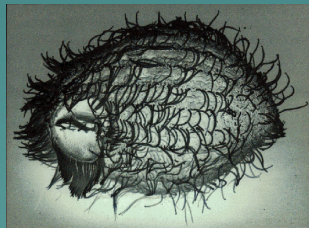
Plaquette après 3 jours
d'incubation



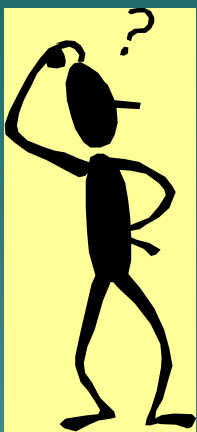
Phytotoxkit

**Test de contact pour l'analyse de la toxicité des sols
et des sédiments, avec 3 espèces de plantes**

Batterie de microbiotests TOXKITS aigus et chroniques, avec diverses espèces test commercialisés par la compagnie MicroBioTests S.A.



Applications des microbiotests TOXKITS



Produits chimiques

Eaux de surface

Eaux souterraines

Sediments

Biotoxines

Déchets solides

Effluents

Composts

Sols

Boues

Detoxification/Bioremediation

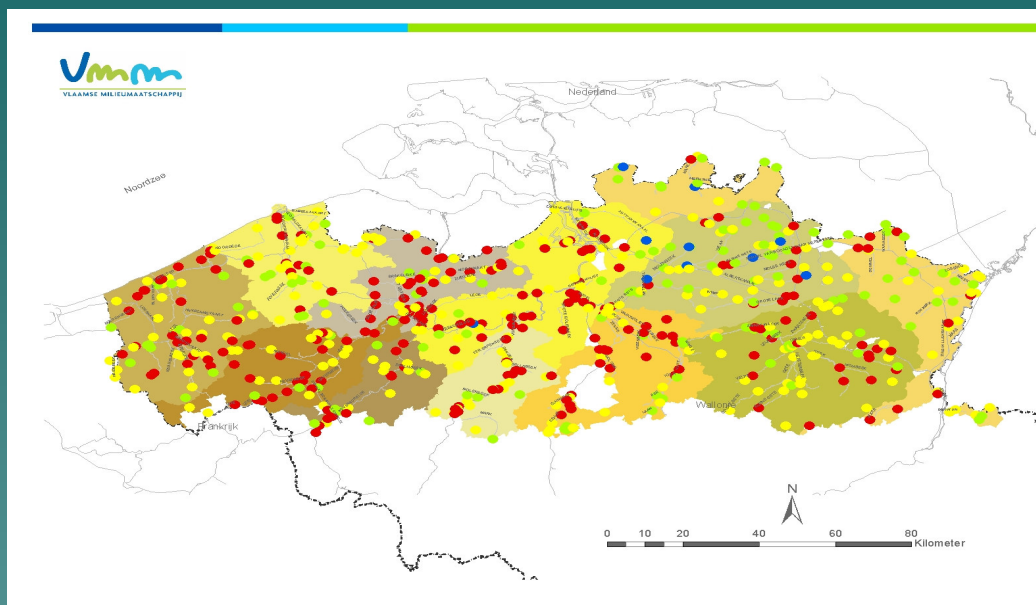
Analyses d'eau urgentes

Environnement marin

*Plus de **400** publications et rapports sur des applications avec des microbiotests
Toxkits sont inclus dans le site web www.microbiotests.be*

*Plus de **150.000** bioessais ont déjà été effectués avec des Toxkits
dans 40 pays à travers le monde*

Analyses écotoxicologiques sur les sédiments en Flandre, Belgique



Depuis une dizaine d'années les sédiments des rivières
des bassins hydrographiques en Flandre sont analysés
chaque année sur leur qualité écologique (approche TRIADE)

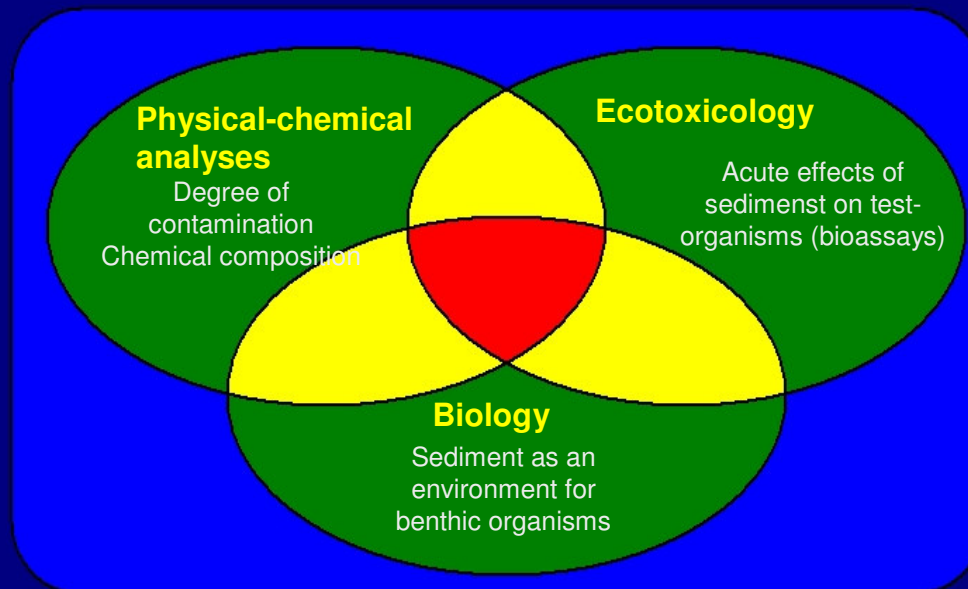
Près de 1000 échantillons en provenance de 600 sites ont déjà été examinés
du point de vue écotoxicologique

TRIAD-approach

Fysico-chemical parameters:

Fractions,
Organic matter,
Mineral oil,
Heavy metals,
OCP's,
PAH's,
PCB's.

Ecological quality of sediments TRIAD-concept



Ecotoxicological parameters:

Solid-phase test:

- *Hyalella azteca*



Liquid-phase test:

- *Raphidocelis subcapitata*



Liquid-phase test:

- *Thamnocephalus platyurus*



Biological parameter:

Benthic macro-invertebrates



Biotic Sediment Index (BSI): presence of indicator organisms and taxonomic diversity



Comparaison par l'Agence de l'Environnement de la Flandre (VMM) du test de contact *Hyalella azteca* avec le microbiotest Ostracodtoxkit



Complexe et cher



Hyalella azteca
(1800-2000µm)

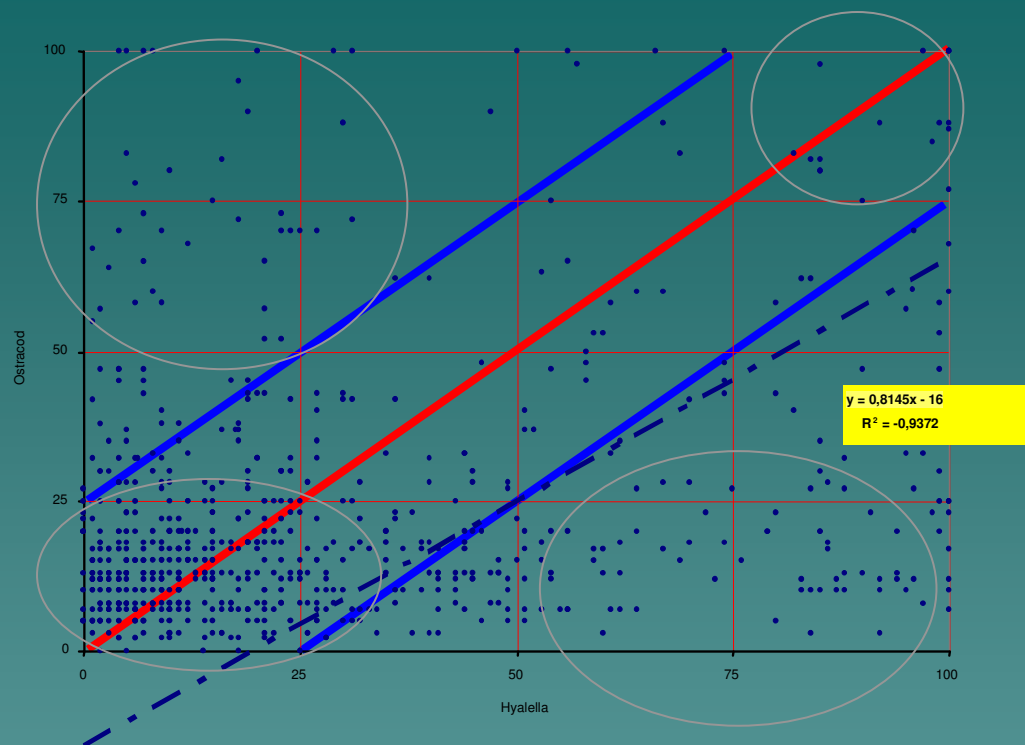


Simple et pratique et peu coûteux



Heterocypris incongruens
(150-200 µm)

Comparaison des résultats de près de 1000 paires de données



La réponse des deux bioessais est similaire pour la majorité des échantillons de sédiments.

Pour les autres échantillons c'est soit l'ostracode, soit l'amphipode qui est plus sensible



Analyses écotoxicologiques sur les sédiments en France

Résultats du groupe de travail MEEDDM « Dangers des sédiments »

Critère H14 (écotoxicité)

Critères H7 (C), H11 (M) et H10 (R)

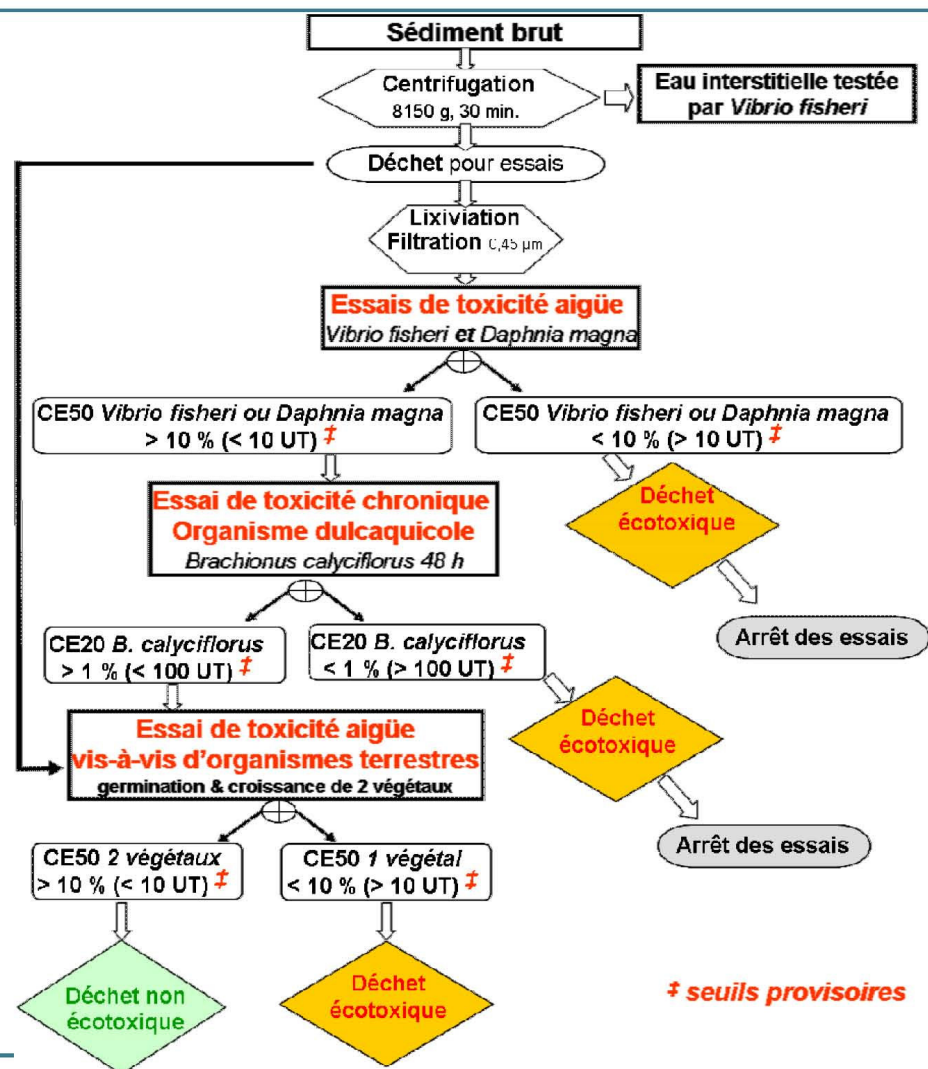
C. Mouvet

BRGM/EPI/SSP



C. Mouvet, Journées Nationales Sédiments, Environord, 10 juin 2010

Le
protocole
H14
MEEDDM
octobre 2009



Utilisation des microbiotests Toxkits dans un cadre réglementaire



Le microbiotest Rotoxkit chronique est déjà un standard ISO



Rotoxkit F chronic

Quatre autres microbiotests Toxkits sont en phase finale
d'acceptation par l'ISO et seront publiés très prochainement



Daphtoxkit F magna



Algaltoxkit



Thamnotoxkit



Ostracodtoxkit

Le microbiotest **Phytotoxkit** sera soumis prochainement à
l'ISO pour devenir un standard ISO pour l'analyse
écotoxicologique des sols et des sédiments



Phytotoxkit

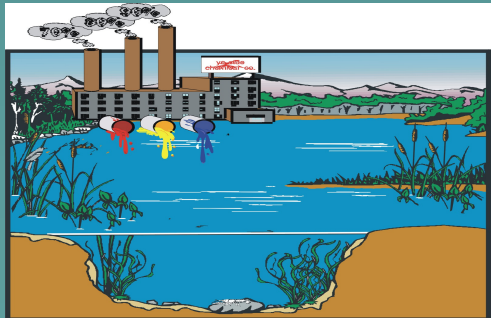
Les microbiotests TOXKITS



- Indépendants de la culture et du maintien des organismes test
- Miniaturisés
- Conviviaux
- Standardisés
- Validés par des essais interlaboratoire
- Très reproductibles
- Peu coûteux

Outils pratiques et fiables pour :

Le monitoring de l'environnement



La recherche

