



HAL
open science

Étude des effets combinés du glutaraldéhyde et des surfactants contenus dans les effluents hospitaliers vis-à-vis de *Daphnia magna*

Clotilde Boillot, Evens Emmanuel, Yves Perrodin

► To cite this version:

Clotilde Boillot, Evens Emmanuel, Yves Perrodin. Étude des effets combinés du glutaraldéhyde et des surfactants contenus dans les effluents hospitaliers vis-à-vis de *Daphnia magna*. *Environnement, Ingénierie & Développement*, 2006, N°42 - Avril-Mai-Juin 2006, pp.22-28. <10.4267/dechets-sciences-techniques.1815>. <hal-03175402>

HAL Id: hal-03175402

<https://hal.science/hal-03175402v1>

Submitted on 20 Mar 2021

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

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



Distributed under a Creative Commons CC BY 4.0 - Attribution - International License

Étude des effets combinés du glutaraldéhyde et des surfactants contenus dans les effluents hospitaliers vis-à-vis de *Daphnia magna*

Clotilde Boillot¹, Evens Emmanuel², Yves Perrodin¹

1 : Laboratoire des sciences de l'environnement, École nationale des travaux publics de l'État, rue Maurice-Audin, 69518 Vaulx-en-Velin, France
2 : Laboratoire de qualité de l'eau et de l'environnement, université Quisqueya, BP 796, Port-au-Prince, Haïti

Pour toute correspondance : Tél : +(33) 4 72 04 72 89 - Fax : +(33) 4 72 04 77 43 - E-mail : boillot@entpe.fr

Le glutaraldéhyde et les surfactants sont très utilisés en milieu hospitalier. Ces substances ont été détectées dans les réseaux d'assainissement et les eaux de surface. L'écotoxicité des effluents hospitaliers est rapportée dans la littérature qui identifie les détergents et les désinfectants comme leurs principaux agents toxiques. L'objectif de cette étude est de mieux appréhender les effets combinés du glutaraldéhyde et de trois surfactants vis-à-vis de *Daphnia magna*. Trois mélanges binaires ont été étudiés avec cinq ratios différents : le glutaraldéhyde avec le SDS (surfactant anionique), puis le TX-100 (surfactant non-ionique), et enfin le CATB (surfactant cationique). L'étude des effets des interactions a été réalisée par le biais du test de toxicité aiguë vis-à-vis de *Daphnia magna*. Le modèle des TI a été utilisé pour évaluer les effets combinés des mélanges sur l'organisme sélectionné. L'additivité des effets des interactions a été observée, et cela pour tous les ratios étudiés. L'additivité des effets pourrait donc être une bonne méthode pour évaluer les effets des effluents hospitaliers sur la Daphnie. Ces résultats correspondent, en outre, à une amélioration des connaissances des mécanismes d'action des polluants sur les écosystèmes aquatiques. La réalisation de nouveaux mélanges binaires utilisant d'autres désinfectants permettra de généraliser notre conclusion à l'ensemble des mélanges binaires de détergents/désinfectants.

Mots clés : glutaraldéhyde, surfactants, SDS, CTAB, TX-100, effets combinés, *Daphnia magna*.

Glutaraldehyde and surfactants are widely used in hospitals. These substances were detected in urban sewer network and in surface water. The ecotoxicity of hospital wastewater has been reported in the literature, which identifies detergents and disinfectants as principal cause of toxicity. The aim of this study was to determine combined effects of glutaraldehyde and three surfactants towards *Daphnia magna*. Three binary mixtures were studied in five predefined ratios: the glutaraldehyde with SDS (an anionic surfactant) then TX-100 (an non-ionic surfactant) and finally CATB (a cationic surfactant). The joint action toxicity of binary mixtures was studied by the acute bioassay on *Daphnia magna*. The TI

model was used to evaluate combined effects of the mixtures on the selected organism. An additive effect was observed between glutaraldehyde and surfactants and that for all the studied ratios. Additive action could be a good method to evaluate hospital wastewater effect on *Daphnia magna*. Moreover, these results lead to better knowledge of the mechanism of action of pollutants towards aquatic organisms. The realization of new binary mixtures using some other disinfectants could be envisaged to generalize our conclusion with the whole of the binary mixtures of detergents/disinfectants.

Keywords : glutaraldehyde, surfactants, SDS, CTAB, TX-100, combined effects, *Daphnia magna*.

INTRODUCTION

Les hôpitaux utilisent d'importants volumes de désinfectants et de détergents dans le nettoyage des équipements de santé et dans l'hygiène du milieu. Après leur utilisation, ces substances sont rejetées dans le réseau d'assainissement de l'hôpital, lequel est raccordé le plus souvent au réseau d'assainissement urbain sans traitement préalable [Leprat et al., 1996 ; Kummerer, 2001]. La mise en œuvre d'essais d'écotoxicité aquatique sur le microcrustacé *Daphnia magna* montre que les effluents hospitaliers ont une écotoxicité élevée [Gartiser et al., 1996; Emmanuel et al., 2005]. Par ailleurs, les résultats d'études d'impact des effluents hospitaliers sur les processus biologiques de STEP montrent que ceux-ci peuvent inhiber l'activité des boues activées [Leprat, 1998]. La première hypothèse avancée sur la toxicité des rejets liquides hospitaliers est qu'elle est due aux différentes substances utilisées dans les services médicaux telles que les détergents, les désinfectants, les mélanges détergents/désinfectants et les agents de contrastes iodés [Deloffre-Bonnamour, 1995 ; Sprehe et al., 2001 ; Jolibois et al., 2002 ; Emmanuel, 2004].

Le glutaraldéhyde (GA), un élément de la famille chimique des dialdéhydes, très utilisé en milieu hospitalier pour la désinfection

à froid de matériels médicaux, a été mesuré à des concentrations allant de 0,50 à 3,72 mg/L dans les effluents hospitaliers [Jolibois et al., 2002].

Les surfactants — ou tensioactifs des détergents — sont également très utilisés dans le milieu hospitalier. Leur présence dans l'environnement est rapportée dans la littérature [Swisher, 1991]. Ils ont été identifiés dans les effluents domestiques et urbains [Swisher, 1991] ainsi que dans les sédiments des milieux aquatiques superficiels [CCPCT, 2000]. Les surfactants sont formés d'une partie polaire à caractère hydrophile qui s'hydrate facilement (ions chargés négativement), et d'une partie non polaire à caractère hydrophobe ou lipophile (chaîne hydrocarbonée insoluble dans l'eau). Ils constituent l'essentiel de la partie organique des détergents. Présents dans l'eau, ils forment, à partir de leur concentration micellaire critique (CMC), un film discontinu et fragile à la surface de l'eau.

Le rejet de GA en concentration excessive dans le réseau d'assainissement urbain peut inhiber l'action des microorganismes et, de ce fait, compromettre la performance du traitement biologique des stations d'épuration [Leung, 2001]. Les effets toxiques du GA sur les organismes aquatiques (tableau 1) sont rapportés dans la littérature [NICNAS, 1994]. Quant aux tensioactifs, ils sont capables de traverser ou de détruire les membranes biologiques. La toxicité des surfactants vis-à-vis des invertébrés et des crustacés est rapportée dans la littérature [Cserháti et al., 2002]. Les effets indésirables des surfactants sur des espèces représentatives des trois premiers niveaux d'organisation de la chaîne alimentaire aquatique (algues, crustacés, poissons) ont été étudiés [Schwarz et Vaeth, 1987 ; Talmage, 1994].

Dans le réseau d'assainissement puis dans les écosystèmes naturels, les polluants contenus dans les effluents hospitaliers se présentent sous la forme de mélanges. Il peut alors se produire des interactions et des effets combinés sur les espèces vivantes. Très peu d'études traitent des effets combinés du GA et des surfactants sur les organismes aquatiques présents dans les effluents hospitaliers. Dans nos premiers travaux sur ce sujet [Emmanuel et al., 2005], des interactions antagonistes vis-à-vis de *Daphnia magna* ont été observées avec trois mélanges binaires contenant chacun du GA (à hauteur de 26,85 mg/L) et un des surfactants suivants (en concentration égale à deux fois leur CMC) : Sodium Dodecyl Sulfate (SDS – anionique), Cethyltriméthylammonium Bromide (CTAB – cationique) et Triton X-100 (TX-100 – non ionique). Cependant, l'étude de mélanges binaires, à différents ratios, de ces substances n'a pas été réalisée. Il semble alors évident qu'une telle démarche pourrait favorablement améliorer la compréhension des mécanismes d'actions de ces polluants sur les écosystèmes aquatiques. L'objectif de cette étude est donc (i) de réaliser une synthèse de la littérature sur l'écotoxicologie des mélanges de substances chimiques, dans la perspective (ii) d'évaluer les effets combinés du GA et de surfactants (substances fréquentes dans les effluents hospitaliers) sur la mobilité de *Daphnia magna*.

| Test | Espèces | Résultat (mg/L) |
|--|---|--|
| Algues ⇒ Inhibition de la croissance (96 h) | <i>Selenastrum capricornutum</i> * | ILm** = 3,9 [Vilkas, 1974] |
| ⇒ Inhibition de la croissance (96 h) | <i>Scenedesmus subcapitatus</i> | CE ₅₀ = 1 [Ritter, 1990] |
| Daphnie ⇒ toxicité aiguë (48 h) | <i>Daphnia magna</i> | CL ₅₀ = 16,3 [UCES, 1977] CL ₅₀ = 0,35 [Vilkas, 1978] |
| Daphnie ⇒ effet sur la reproduction (21 jours) | <i>Daphnia magna</i> | LOEC = 4,3 [CCR, 1990] |
| Poisson ⇒ toxicité aiguë (96 h) | <i>Lepomis macrochirus Rafinesque</i> (crapet à oreilles bleues) | CL ₅₀ = 11,2 [Vilkas, 1978] |
| Autres espèces ⇒ toxicité aiguë (48 h) | <i>Crassostrea virginica</i> (larves d'huître) | CL ₅₀ = 2,1 [UCAES, 1975] |
| ⇒ toxicité aiguë (96 h) | <i>Carcinus maenas</i> (crabes verts) | CL ₅₀ = 465 [UCAES, 1975] |
| ⇒ toxicité aiguë (96 h) | <i>Palaemonetes vulgaris</i> (crevettes) | CL ₅₀ = 41 [UCAES, 1975] |

* *Pseudokirchneriella pseudocapitata*

** median Inhibitory Limit

Tableau 1 : Écotoxicité du GA pour les organismes aquatiques.

ASPECTS THÉORIQUES DE L'ÉCOTOXICITÉ DES MÉLANGES DE SUBSTANCES CHIMIQUES

Bliss [1939] a identifié trois modes d'action des constituants au sein d'un mélange vis-à-vis des organismes vivants : (i) « Independent joint action » – dans ce type d'action les constituants agissent sur des sites d'actions différents et la réponse biologique d'un constituant est — ou n'est pas — influencée par l'autre ; (ii) « Similar joint action » - les constituants agissent de manière indépendante sur les mêmes sites d'actions et la réponse biologique d'un constituant n'est pas influencée par un autre (c'est l'approche la plus utilisée pour l'étude des mélanges) ; et finalement (iii) « Synergistic action » où la réponse d'un mélange ne peut pas être appréhendée par les réponses isolées des constituants et dépend des effets combinés de ceux-ci. Groten et al. [2001] ont démontré que ces interactions se manifestent surtout lorsque les substances constituant le mélange ont un rôle dans la biotransformation enzymatique ou agissent sur le métabolisme.

En se basant sur les résultats des travaux initiaux de Bliss [1939], Plackett et Hewlett [1952] ont élaboré la classification suivante (tableau 2) pour un mélange de 2 substances. Dans cette démarche, « Similar joint action » signifie les mêmes sites d'action, « Dissimilar » des sites différents, « Non-interactive » veut dire que la réponse biologique d'un produit n'est pas influencée par celle de l'autre (autrement dit que l'interaction est additive), « interactive » veut dire que les effets sont plus qu'additifs (synergistes) ou moins qu'additifs (antagonistes).

| | Similar joint action | Dissimilar joint action |
|-----------------|---|---------------------------------|
| Non-interactive | Simple similar (concentration addition) | Independent (response addition) |
| Interactive | Complex similar | Dependent |

Tableau 2 : Classification des interactions de deux substances.

En effet, les effets toxiques d'un mélange de polluants sur un organisme cible peuvent être de simple addition d'actions, mais aussi d'antagonismes ou de potentialisation – « synergie » [Hermens et al., 1984]. On parle d'antagonisme lorsque l'écotoxicité du mélange conduit à une réponse toxique inférieure à la somme des toxicités observées par les substances prises individuellement. L'additivité des réponses se produit lorsque la somme des réponses de chaque substance est égale à la réponse toxique du mélange. Les réponses synergiques sont quant à elles observées lorsque la combinaison des réponses d'un mélange est supérieure à la somme des réponses de chaque composant [Mercier, 2002 ; Warne, 2003].

Plusieurs modèles ont été élaborés pour l'analyse quantitative des mélanges. Brown [1968] et Sprague [1970] ont introduit le concept d'unité toxique (UT ou toxic unit TU). L'UT d'une substance est la dose utilisée divisée par sa CE50 sur l'organisme considéré.

La toxicité d'un mélange de deux constituants peut être alors exprimée par la somme des UT de chacun des constituants, car il s'agit de rapports sans dimension. Si la somme des UT est égale à 1, on présume que la toxicité est additive ; elle sera plus qu'additive si la somme des UT est > 1 et moins qu'additive si cette somme est < 1.

Par extension du modèle des UT, Marking [1977] a développé celui de l'index d'additivité. Ce modèle est une modification destinée à résoudre le problème de non-linéarité des UT autour de 1. Belkhadir [1979] a de son côté développé le modèle de l'index de toxicité par la formule suivante :

$$TI = \sum_{i=1}^n (C_{mél}/CE50_{seul}) \quad (\text{équation 1})$$

TI : Index de toxicité

$C_{mél}$: Concentration de la substance dans le mélange à la CE50 (mg/L)
 $CE50_{seul}$: CE50 de la substance seule (mg/L)

Pour :

TI = 1 : les effets des interactions ont un caractère additif

TI > 1 : les effets des interactions ont un caractère antagoniste

TI < 1 : les effets des interactions ont un caractère synergiste.

Cette méthode de l'index de toxicité ou « toxicity index » sert à dégager les caractéristiques générales des interactions dans un mélange de plus de deux composés. A noter que l'hypothèse TI = 1 (impliquant l'additivité des effets) est souvent élargie. Ainsi, pour Deneer [2000], l'hypothèse peut être étendue à 0,5 < TI < 2. L'EIFAC [1980] propose de son côté une additivité des effets pour : 0,5 < TI < 1,5.

L'hypothèse de l'additivité est la base de la plupart des modèles. De nombreuses études préconisent l'additivité des effets comme une approche suffisante en modélisation de l'écotoxicité des mélanges. Pour 70 à 80 % des mélanges, l'additivité des effets serait vérifiée, 10 à 15 % des mélanges auraient des effets cumulatifs antagonistes, et il en serait de même pour les effets cumulatifs synergiques [Ross et Warne, 1997].

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Mise au point des mélanges

Dans un premier temps, la toxicité aiguë du GA et des 3 surfactants (SDS, CTAB et TX-100) vis-à-vis de *Daphnia magna* a été étudiée expérimentalement. Les propriétés physico-chimiques du GA et des surfactants sont résumées dans les tableaux 3 et 4. Une solution commerciale de GA à 50 % a été fournie par la Société Prolabo. Les 3 surfactants ont été fournis par Merck : SDS à 85 % sous forme pharmacopée ; CTAB à 98-100 %, et TX-100 à 99-100 %, sous forme « qualité pour analyses ».

| | |
|-----------------------|--|
| Formule brute | C ₅ H ₈ O ₂ |
| N° CAS | 111-30-8 |
| Formule | (CHO-(CH ₂) ₃ -CHO) |
| Masse molaire | 100,12 g/mol |
| Point de fusion | -14,8 °C |
| Point d'ébullition | 188,8 °C |
| Tension de vapeur | 0,6 Torr à 25 °C |
| Solubilité dans l'eau | 100g/100g H ₂ O à 25 °C |
| Solubilité | soluble dans l'eau, l'alcool et le benzène |
| Constante d'Henry | 1,1 e-7 atm/m ³ mol |
| K _{OH} | 2,4*-11 cm ³ /molécules |
| log K _{ow} | -0,18 |
| Facteur de conversion | 4.1 Ag/m ³ per ppb à 25,8 °C |

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques du glutaraldéhyde.

| Propriétés physico-chimiques | Surfactants | | |
|------------------------------|--|--|---|
| | SDS | CTAB | TX-100 |
| Formule | C ₁₂ H ₂₅ SO ₂ Na | [CH ₃ (CH ₂) ₁₂ N(CH ₃) ₃]Br | C ₁₂ H ₂₇ C ₆ H ₅ O(CH ₂ CH ₂ O) ₆ H |
| N° CAS | 151-21-3 | 57-09-0 | 9002-93-1 |
| Type de surfactant | Anionique | Cationique | Non ionique |
| Masse molaire | 288,38 g/mol | 364 g/mol | 625 g/mol |
| CMC | 1,45 mmol/L | 0,9 mmol/L | 0,27 mmol/L |

Tableau 4 : Propriétés physicochimiques des surfactants utilisés.

Des essais ont ensuite été réalisés sur les trois mélanges binaires : GA/SDS, GA/CTAB et GA/TX-100. Pour ce faire, des mélanges avec des pourcentages de GA et de surfactants variant entre 20 et 80 % ont été préparés. Ces pourcentages correspondent à ceux choisis par Otitolouj [2002] pour l'étude de mélanges binaires de métaux.

Les solutions mères expérimentales sont préparées pour l'étude sur la base de 1 g de substance diluée dans 1 L d'eau bi-distillée (1 g/L), sauf pour celles contenant du CTAB qui sont préparées à 100 mg/L car celui-ci cristallise facilement. Les mélanges ainsi préparés sont conservés au maximum 4 jours en chambre froide à 4 °C afin d'éviter un biais des résultats via la dégradation des solutions. Les dilutions utilisées pour les essais sont réalisées à partir de milieu ISO synthétique pour *Daphnie* [NF EN ISO 6341 (T90-301)].

Mise en œuvre des essais d'écotoxicité

Daphnia magna Straus est un organisme très sensible vis-à-vis des mélanges de détergents/désinfectants [Boillot, 2004] et des surfactants [Lal et al., 1983; Lewis et Suprenant, 1983]. Cet essai, très répandu en écotoxicité aquatique, est reproductible, simple, rapide et peu coûteux [Keddy et al., 1995]. Dans le cadre de cette étude, les travaux se sont limités à des essais d'inhibition de la mobilité en 24 h suivant la norme NF EN ISO 6341 (T90-301).

Les essais ont été réalisés au Laboratoire des sciences de l'environnement de l'ENTPE au moyen de daphnies maintenues en culture par parthénogenèse et nourries à partir d'un mélange de deux algues : *Chlorella vulgaris* et *Pseudokirchneriella subcapitata*. La sensibilité des cultures est régulièrement contrôlée par un essai vis-à-vis du dichromate de potassium dont la CE50 doit être comprise entre 0,6 et 1,7 mg/L. Pour les bioessais, on utilise de jeunes daphnies âgées de moins de 24 h. Chaque concentration est testée dans quatre tubes à essais contenant 10 ml de mélange.

Dans chacun de ces tubes, on place cinq jeunes daphnies. Les tubes sont alors disposés à l'obscurité pendant 24 h à 20 °C. Au bout de 24 h, les daphnies mobiles sont dénombrées pour chaque concentration testée.

Estimation de la mobilité de la daphnie et analyse des effets combinés des mélanges

Pour chaque concentration testée, on a calculé le pourcentage d'immobilisation par rapport au nombre initial de 20 daphnies mises en expérimentation. La CE50-24 h est déterminée par la méthode statistique de Litchfield-Wilcoxon « méthode des probits » [Finney, 1971].

Nous avons adopté le modèle des TI [Belkhadir, 1979] pour l'interprétation des résultats et la mise en évidence des effets combinés des interactions chimiques au sein d'un couple de substances.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Toxicité aiguë du GA et des surfactants vis-à-vis de la daphnie

Les résultats des essais d'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* en 24 h pour le GA et les 3 surfactants sont présentés dans le tableau 5. L'écotoxicité aiguë des substances étudiées varie de la manière suivante : CTAB > GA > SDS > TX-100. Ce classement de la toxicité aiguë des substances étudiées est en conformité avec les résultats obtenus dans nos précédentes études [Emmanuel et al., 2005]. Cependant, un écart significatif est observé entre les valeurs de CE50 obtenues dans cette étude pour le SDS (54,4 mg/L) et le TX-100 (89,7 mg/L) et celles obtenues précédemment (respectivement 29,21 et 38,05 mg/L). Ces différences pourraient être liées à la modification de la source d'approvisionnement en SDS (formulation technique légèrement différente) entre les 2 études.

| Substances | CE50 en mg/L (intervalles de confiance à 95 %) |
|------------|--|
| GA | 21,8 (19,4 - 24,5) |
| SDS | 54,4 (47,9 - 61,9) |
| TX-100 | 89,7 (77,5 - 103,9) |
| CTAB | 0,08 (0,08 - 0,09) |

Tableau 5 : Toxicité aiguë du GA et des surfactants pour *Daphnia magna*.

Les surfactants cationiques et anioniques sont connus pour être plus toxiques que les surfactants non ioniques [Rousse et al., 1994 ; Park et Bielefeldt, 2003]. La toxicité des surfactants vis-à-vis des invertébrés, dont les crustacés, a fait l'objet de plusieurs études. Cette toxicité varie selon l'espèce et le type de surfactants [Whiting et al., 1996 ; Cserhádi et al., 2002]. Cserhádi et al. [2002] notent que *Daphnia magna* est l'organisme le plus sensible aux surfactants parmi la batterie de bioessais testés.

Effets combinés des mélanges GA/ surfactants

(i) Observations générales

Les CE50 24 h obtenues pour les trois mélanges de GA et de surfactants en 5 ratios différents sont présentées dans le tableau 6.

| % dans le mélange | | CE50 en mg/L (intervalles de confiance à 95 %) |
|-------------------|------|---|
| GA | SDS | |
| 80 % | 20 % | 27,1 (24,0 - 30,7) |
| 60 % | 40 % | 39,3 (31,7 - 48,8) |
| 50 % | 50 % | 43,1 (38,4 - 48,5) |
| 40 % | 60 % | 42,8 (40,2 - 45,6) |
| 20 % | 80 % | 45,4 (41,8 - 49,3) |

| % dans le mélange | | CE50 en mg/L (intervalles de confiance à 95 %) |
|-------------------|--------|---|
| GA | TX-100 | |
| 80 % | 20 % | 37,4 (34,1 - 41,0) |
| 60 % | 40 % | 50,6 (45,0 - 56,7) |
| 50 % | 50 % | 51,2 (43,8 - 59,9) |
| 40 % | 60 % | 58,5 (51,1 - 67,0) |
| 20 % | 80 % | 102,6 (84,3 - 124,8) |

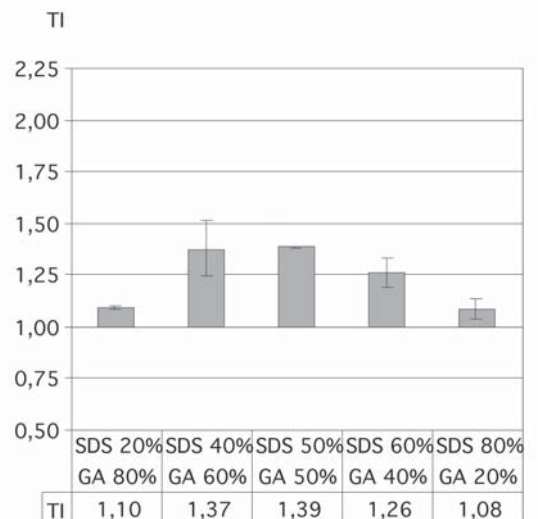
| % dans le mélange | | CE50 en mg/L (intervalles de confiance à 95 %) |
|-------------------|------|---|
| GA | CTAB | |
| 80 % | 20 % | 0,39 (0,36 - 0,43) |
| 60 % | 40 % | 0,27 (0,25 - 0,29) |
| 50 % | 50 % | 0,20 (0,18 - 0,23) |
| 40 % | 60 % | 0,17 (0,16 - 0,19) |
| 20 % | 80 % | 0,12 (0,11 - 0,13) |

Tableau 6 : CE50 expérimentales des mélanges.

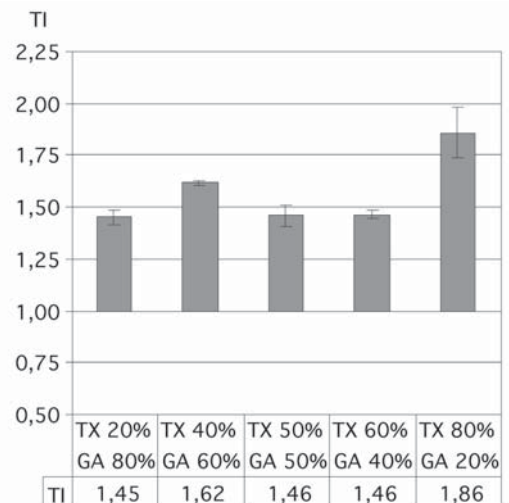
Les CE50 des mélanges réalisés avec différents ratios de GA et de surfactants tendent à se rapprocher de la CE50 de la substance pure (100 %) dont le pourcentage est plus important dans le mélange. En effet, si on prend l'exemple du mélange GA/SDS, on peut voir que les CE50 augmentent avec la proportion de SDS en mélange. Le GA a une CE50 de 21,8 mg/L et le SDS de 54,5 mg/L. Les CE50 des mélanges GA/SDS augmentent de manière régulière et progressive entre les CE50 de SDS et de GA avec des valeurs de 27,1 mg/L pour le mélange 80/20 et jusqu'à 45,4 mg/L pour le mélange 20/80. Les mêmes constatations sont faites pour les mélanges GA/TX-100 et GA/CTAB, à la nuance près que pour le mélange GA/CTAB, on peut observer un écart de CE50 très important entre la CE50 de GA pure (21,8 mg/L) et la CE50 du mélange 80/20 (0,39 mg/L). Cette différence peut sans doute être expliquée par l'important écart de toxicité entre les deux substances (CE50GA = 21,8 mg/L, CE50CTAB = 0,08 mg/L). Il est globalement constaté que les CE50 des mélanges varient proportionnellement au pourcentage de substances pures en mélange. Les interactions seraient donc de même nature au sein des trois mélanges étudiés.

(ii) Utilisation du modèle des TI

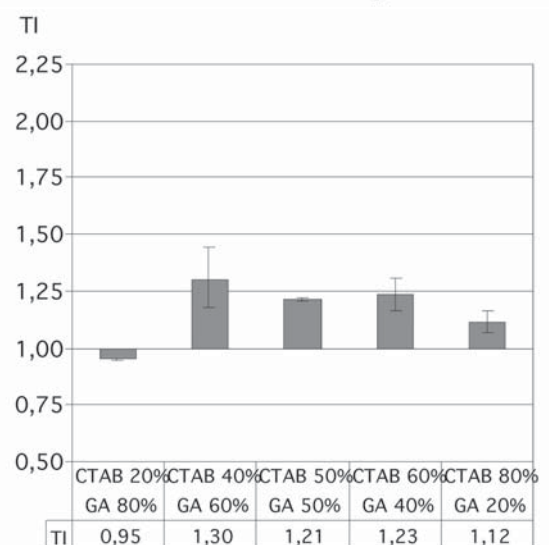
Les TI calculés à partir des CE50 sont présentés sous formes d'histogrammes dans la figure 1.



% GA et SDS en mélange



% GA et TX en mélange



% GA et CTAB en mélange

Figure 1 : Histogramme des TI des mélanges GA/surfactants.

À première vue, l'observation des histogrammes des TI inciterait à conclure que pour les trois mélanges et pour tous les ratios étudiés, il s'agit d'interactions antagonistes puisque les TI sont tous supérieurs à 1. Un seul ratio sort du lot, il s'agit du mélange CTAB20-GA80 dont le TI est égal à 0,95. Dans ce mélange, il y aurait une très légère synergie des effets. Les TI des mélanges GA/SDS et GA/CTAB sont tous inférieurs à 1,5 contrairement aux TI du mélange GA/TX-100 dont les valeurs montent jusqu'à 1,85 pour le mélange 20/80. Le caractère antagoniste des interactions serait donc plus important au sein de ces mélanges. Ces résultats sont basés sur le modèle des TI développé par Belkhadir [1979], qui énonce qu'il y aurait additivité des effets pour $TI = 1$.

(iii) Analyse critique du modèle des TI

Il a été montré, dans la partie Aspects théoriques de l'écotoxicologie des mélanges de substances chimiques, que l'hypothèse du modèle des TI : « $TI = 1$ implique l'additivité des effets » est souvent élargie. L'EIFAC [1980] propose d'encadrer cette valeur de 1 de $\pm 0,5$ et Deneer [2000], d'y appliquer un facteur de variation de 2, c'est-à-dire qu'il y a additivité pour des valeurs de TI comprises dans l'intervalle [0,5-2,0]. La proposition de Deneer [2000] repose sur l'analyse statistique des résultats de 26 études menées entre 1972 et 1998 représentant au total un peu plus de 200 mélanges dont 132 différents. Nous retenons donc sa proposition pour l'interprétation de nos résultats.

Cette nouvelle donnée modifie la première interprétation de nos résultats.

(iiii) Interprétation des TI par la proposition de Deneer [2000]

La nouvelle analyse des histogrammes des TI des mélanges GA/SDS, GA/TX-100 et GA/CTAB (figures 1, 2 et 3) par le biais de la proposition de Deneer donne des résultats différents. En effet, les TI des trois mélanges en 5 ratios se situent tous entre 0,95 et 1,86 et sont donc compris dans l'intervalle [0,5 - 2,0]. Les interactions sont donc additives pour les trois mélanges GA/surfactants, quelle que soit la proportion de GA et de surfactant dans le mélange.

La littérature montre le plus souvent une additivité des effets. Ross et Warne [1997] réunissant les données de 973 mélanges, concluent que l'additivité est l'effet le plus souvent rencontré au sein des mélanges, et que cet effet est encore plus fréquent pour les mélanges contenant un grand nombre de composés. Deneer [2000] observe l'additivité des effets pour 90 % des 200 mélanges de pesticides étudiés. Les résultats de l'EIFAC [1980] sont similaires puisque qu'ils conduisent à la conclusion que les effets combinés des mélanges de polluants communs donnent le plus souvent lieu à des effets additifs.

L'interprétation de nos résultats par le modèle des TI et la proposition de Deneer s'inscrit donc dans la tendance générale décrite dans la littérature concernant les interactions des substances présentes dans les mélanges de produits chimiques.

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était (i) de réaliser une synthèse de la littérature sur l'écotoxicologie des mélanges de substances chimiques, dans la perspective (ii) d'évaluer les effets combinés du GA et de surfactants, substances habituellement utilisées dans les établissements de santé et mesurées dans les effluents hospitaliers, sur la mobilité de la *Daphnia magna*.

Les résultats obtenus montrent que les effets des mélanges binaires de glutaraldéhyde et de surfactants vis-à-vis de *Daphnia magna* sont globalement additifs. Ce caractère a été mis en évidence en appliquant les modèles des TI avec l'interprétation de Deneer aux trois mélanges étudiés en cinq ratios différents. Ces résultats sont en accord avec la littérature qui constate une additivité des effets dans la grande majorité des cas [Marking, 1977 ; EIFAC, 1980 ; Ross et Warne, 1997 ; Deneer, 2000 ; Mercier, 2002].

La réalisation de nouveaux mélanges binaires utilisant d'autres désinfectants permettra de généraliser notre conclusion à l'ensemble des mélanges binaires de détergents/désinfectants. Les résultats alors obtenus permettront de contribuer à l'élaboration d'une méthode d'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux rejets d'effluents hospitaliers dans le milieu naturel par le biais d'une approche de type « substances » prenant en compte les interactions.

Néanmoins, ce travail a porté uniquement sur la mesure d'effets létaux à court terme (essai daphnie 24 h). Il sera important à l'avenir de travailler également sur les doses infra-létales. En effet, s'il est évident que l'addition de plusieurs doses infra-létales d'un même produit conduit à un mélange létaux, il est difficile de prédire quel sera l'effet de mélanges de produits différents à faibles doses. Ceci est d'autant plus pertinent que les concentrations environnementales sont généralement des mélanges de produits en faibles concentrations.

Bibliographie

Belkhadir E. M. (1979), Étude sur l'écotoxicologie des hydrocarbures aromatiques légers en milieu dulçaquicole. Metz : Université de Metz, 204 p.

Bliss C. I. (1939), The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. Appl. Biol.*, 26, 585-615.

Boillot C. (2004), Évaluation de l'écotoxicité de détergents/désinfectants - Modélisation mathématique prédictive - Évaluation du risque écotoxicologique - Mémoire de DEA - INSA de Lyon - Mention Sciences et techniques du déchet. Lyon : INSA de Lyon, 49 p.

Brown V. M. (1968), The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout. *Water Research*, 2, 10, 723-733.

CCPCT. Green seal standard and environmental evaluation for general-purpose, bathroom and glass cleaners used for industrial and institutional purposes. Knoxville, TN : University of Tennessee, 2000, 83 p.

CCR (Cytotest Cell Research), Influence of Piror 850 on the Reproduction of *Daphnia magna*, Project N° 164002, 1990.

Cserhádi T., Forgács E. et Oros G. (2002), Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment International*, 28, 5, 337-348.

Deloffre-Bonnamour N. (1995), Les rejets des établissements de santé : des effluents liquides aux déchets solides - Mémoire de Maîtrise - IUP Génie de l'environnement - Ecodéveloppement - Université Claude-Bernard - Lyon 1, 75 p.

Deneer J. W. (2000), Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. *Pest Management Science*, 56, 6, 516-520.

- EIFAC. Report on combined effects on freshwater fish and other aquatic life of mixtures of toxicants in water. Rome, 1980, 49 p.
- Emmanuel E. (2004), Évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés aux effluents hospitaliers - Thèse INSA de Lyon - Spécialité Sciences et techniques du déchet. Lyon : INSA de Lyon, 259 p.
- Emmanuel E., Hanna K., Bazin C., Keck G., Clement B. et Perrodin Y. (2005), Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms. *Environment International*, 31, 3, 399-406.
- Emmanuel E., Perrodin Y., Keck G., Blanchard J.-M. et Vermande P. (2005), Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. *Journal of Hazardous Materials*, 117, 1, 1-11.
- Finney D.J. Probit analysis. 3rd edition. Cambridge : Cambridge University Press, 1971.
- Gartiser S., Willmund R., Brinker L., Erbe T. et Kümmerer K. (1996), Contamination of hospital wastewater with hazardous compounds as defined by § 7a WHG. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 24, 2, 90-97.
- Groten J.P., Feron V.J. et Sühnel J. (2001), Toxicology of simple and complex mixtures. *Trends in pharmacological sciences*, 22, 6, 316-322.
- Hermens J., Canton H., Janssen P. et De Jong R. (1984), Quantitative structure-activity relationships and toxicity studies of mixtures of chemicals with anaesthetic potency : Acute lethal and sublethal toxicity to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 5, 2, 143-154.
- Jolibois B., Guerbet M. et Vassal S. (2002), Glutaraldehyde in hospital wastewater. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 42, 137-144.
- Keddy C.J., Greene J. C. et Bonnell M.A. (1995), Review of whole-organism bioassays : Soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 30, 3, 221-251.
- Kümmerer K. (2001), Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere*, 45, 6-7, 957-969.
- Lal H., Misra V., Viswanathan P.N. et Murti C. R. K. (1983), Comparative studies on ecotoxicology of synthetic detergents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 7, 6, 538-545.
- Leprat P. Les rejets liquides hospitaliers, quels agents et quelles solutions techniques? In: les Assises Nationales QUALIBO 1998. Santé et environnement hospitalier; Caen (14), 1998, pp. 10-13.
- Leprat P., Chedevergne E., Camus A., Pacheco A. et Mounier M. (1996), Diagnostic physico-chimique et microbiologique des rejets hospitaliers. État des lieux à l'hôpital Dupuytren CHU de Limoges. *Techniques hospitalières*, 612, 35-38.
- Leung H.-W. (2001), Ecotoxicology of glutaraldéhyde : Review of environmental fate and effects studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 1, 26-39.
- Lewis M.A. et Suprenant D. (1983), Comparative acute toxicities of surfactants to aquatic invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 7, 3, 313-322.
- Marking L.L. (1977), Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures. *Aquatic Toxicity and Hazard Evaluation*, 634, 99-108.
- Mercier T. Avis de la Commission d'Étude de la Toxicité concernant les mélanges de produits phytopharmaceutiques. Réponses aux questions faisant l'objet d'une saisine de la Commission par la Direction Générale de l'Alimentation. Projet v10. Versailles : INRA, 2002, 29 p.
- NF EN ISO 6341 (T90-301). Qualité de l'eau : Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Essai de toxicité aiguë. 1996, 9 p.
- NICNAS. Priority Existing Chemical Assessment Reports n° 3 : Glutaraldehyde. Canberra : Australian Government Publishing service, 1994, 176 p.
- Otitolaju A.A. (2002), Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 3, 404-415.
- Park S.-K. et Bielefeldt A. R. (2003), Equilibrium partitioning of a non-ionic surfactant and pentachlorophenol between water and a non-aqueous phase liquid. *Water Research*, 37, 14, 3412-3420.
- Plackett R.L. et Hewlett P.S. (1952), Quantal responses to mixtures of poisons. *J royal Stat Soc*, 14, 141.
- Ritter, Acute Toxicity of Piror 850 to *Scenedesmus subspicatus*, RCC Umweltchemie Project N° 245340, 1990.
- Ross H. et Warne M. Most chemical mixtures have additive aquatic toxicity. Proceedings of the Third Annual Conference of the Australasian Society for Ecotoxicology, 17-19.07.1997, Brisbane, 1997, p. 21.
- Rousse J. D., Sabatini D.A., Sufita J. M. et Harwell J. H. (1994), Influence of surfactants on microbial degradation of organic compounds. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 24, 325-323.
- Schwarz G. et Vaeth E. Analysis of surfactant formulations. In: Falbe J. Surfactants in consumer products : theory, technology and application. Heidelberg: Springer-Verlag, 1987.
- Sprague J.B. (1970), Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Research*, 4, 1, 3-32.
- Sprehe M., Geißen S.-U. et Vogelpohl A. (2001), Photochemical oxidation of iodized X-ray contrast media (XRC) in hospital wastewater. *Water Science and Technology*, 44, 5, 317-323.
- Swisher S. C. Surfactant biodegradation. 2nd ed. New York : Marcel Dekker, 1991.
- Talmage S. Environmental and human safety of major surfactants, alcohol, ethoxylates and alkylphenol ethoxylates. Boca Raton (FL) : Lewis Publishers, 1994, 374 p.
- UCAES (Union Carbide Aquatic Environmental Sciences), Acute Toxicity of Glutaraldehyde to Oyster Larvae (*Crassostrea virginica*), Green Crabs (*Carcinus maenas*) and Grass Shrimp (*Palaemonetes vulgaris*), 1975.
- UCES, (Union Carbide Environmental Services), The Acute Toxicity of 25 % Aqueous Glutaraldehyde to the Water Flea, *Daphnia magna* Straus, Project N° 11506-61-03, 1977.
- Vilkas Toxicity of Glutaraldehyde (25 %) to *Selenastrum capricornutum* in PAAP Medium, Union Carbide Aquatic Environmental Sciences, 1974.
- Vilkas The Acute Toxicity of 50 % Glutaraldehyde to the Water Flea, *Daphnia magna* Straus, Union Carbide Environmental Services Project N° 11506-61-04, 1978.
- Vilkas The Acute Toxicity of 50 % Glutaraldehyde to Bluegill Sunfish, *Lepomis macrochirus* Rafinesque, Union Carbide Environmental Services Project N° 1506-61-06, 1978.
- Warne M.S.J. A review of the ecotoxicity of mixtures, approaches to, and recommendation for, their management. In : A. Langley, M. Gilbey and B. Kennedy. Fifth national workshop on the assessment of site contamination, Adelaide, 2003, pp. 253-276.
- Whiting V.K., Lepo J.E. et Cripe G.M. (1996), Effects of the anionic surfactant, sodium dodecyl sulfate, on newly-hatched blue crabs, *Callinectes sapidus*, and other routinely tested estuarine crustaceans. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31, 2, 293-295.