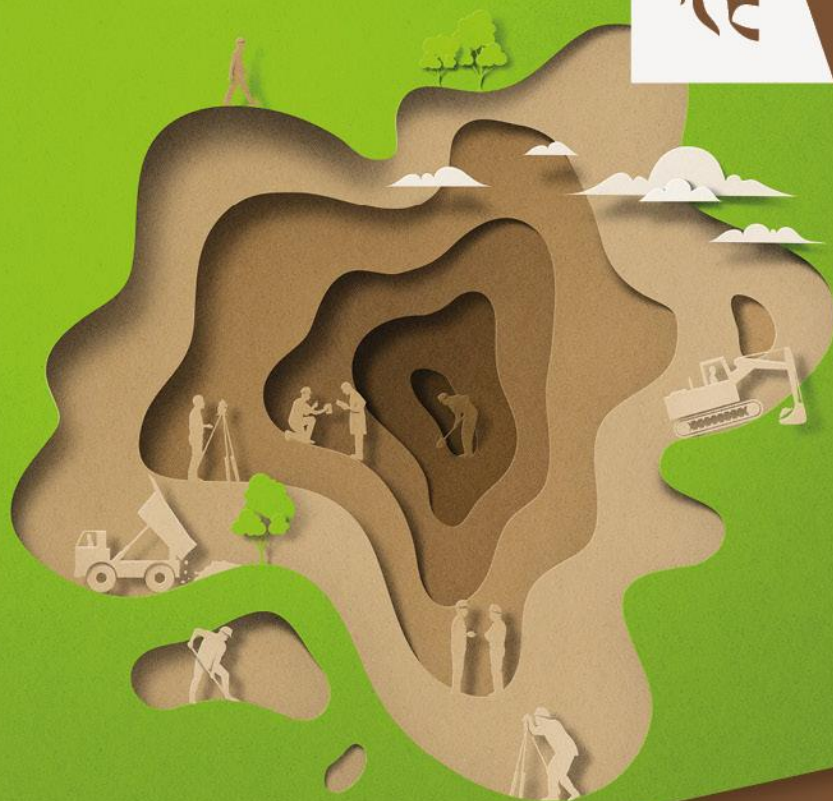




Vlaanderen
is materiaalbewust



Ecotoxicologisch onderzoek waterbodem

Rapport – fase I: literatuurstudie

SAMEN MAKEN WE
MORGEN MOOIER

OVAM

OVAM.VLAANDEREN.BE



ECOTOXICOLOGISCH **ONDERZOEK** **WATERBODEM**

RAPPORT – FASE I: LITERATUURSTUDIE

Publicatiedatum 23.04.2025



DOCUMENTBESCHRIJVING

- 1 *Titel van publicatie:*
ECOTOXICOLOGISCH ONDERZOEK
WATERBODEM
RAPPORT – FASE I: LITERATUURSTUDIE
- 2 *Verantwoordelijke Uitgever:*
OVAM
- 3 *Wettelijk Depot nummer:* D/2025/5024/06
- 4 *Trefwoorden:*
ecotoxicologie, waterbodem
- 5 *Samenvatting:*
Dit rapport geeft een overzicht van ecotoxicologische evaluatiemogelijkheden van waterbodems, beschreven in de literatuur. Op basis hiervan worden organismen geselecteerd voor ecotoxicologisch vervolgonderzoek.
- 6 *Aantal bladzijden:* 54
- 7 *Aantal tabellen en figuren:* 14
- 8 *Datum publicatie:* 2025
Voor de meest recente versie van dit document kunt u terecht op de OVAM website: ovam.vlaanderen.be
- 9 *Prijs*:* /
- 10 *Begeleidingsgroep en/of auteur:*
Hilda Witters, Siegfried Hofman, Kaat Touchant, Wouter Gebbink (VITO)
Marnix Vangheluwe (ARCHE)
Jaap Postma (Ecofide)
Lieven Bervoets (UAntwerpen)
Els Ryken, Raf Els (VMM)
Katrien Van de Wiele (OVAM)
- 11 *Contactpersonen:* Katrien Van de Wiele,
Hilda Witters
- 12 *Andere titels over dit onderwerp:* /

U hebt het recht dit rapport te downloaden, te printen en digitaal te verspreiden. U hebt niet het recht deze aan te passen of voor commerciële doeleinden te gebruiken.

De meeste OVAM-publicaties kunt u raadplegen en/of downloaden op de OVAM-website: ovam.vlaanderen.be

* Prijswijzigingen voorbehouden.

SAMENVATTING

Dit rapport geeft een overzicht van ecotoxicologische methoden voor de evaluatie van chronische toxiciteit in waterbodems door middel van een literatuuronderzoek voor de periode 2013-2023. Op basis hiervan worden 3 methoden met waterbodem organismen geselecteerd voor ecotoxicologisch vervolgonderzoek.

Voor gevallen van ernstige waterbodemverontreinigingen werkt de OVAM momenteel aan een systematiek, gebaseerd op drie pijlers: verspreidingsrisico, humaan toxicologisch risico en ecotoxicologisch risico. In 2020 werden stofgerichte 'triggerwaarden' vastgelegd om over te gaan tot diepgaander waterbodemonderzoek bij verontreiniging. Nochtans leidt de overschrijding van deze triggerwaarden niet noodzakelijk tot ecotoxicologische effecten. Verder is de informatie (o.a. biologische beschikbaarheid) over verschillende stoffen in een complexe matrix beperkt of ontbrekend.

Een ecotoxicologische evaluatie komt tegemoet aan deze beperkingen door het effect van zowel bekende als onbekende stoffen op organismen te onderzoeken. Deze evaluatie moet rekening houden met de interacties tussen waterbodem en het omringende watersysteem. Uit dit literatuuronderzoek worden een aantal testsystemen geselecteerd voor een vervolgstudie, rekening houdend met verschillende parameters (o.a. gevoelige toxicologische eindpunten, standaardisatie, duur, kostprijs, gebruiksgemak, ecologische relevantie, beschikbaarheid van organismen, reproduceerbaarheid, ...).

Voor de pilootstudie op matig tot sterk vervuilde waterbodems is een testbatterij geselecteerd voor chronische effecten bij de rondworm *Caenorhabditis elegans* en de mosselkreeft *Heterocypris incongruens*. Daarnaast is de 28 dagen test met de amfipode *Hyalella azteca* weerhouden vanwege zijn hogere gevoeligheid.

DISCLAIMER

Dit rapport en de respectievelijke bevindingen zijn louter gebaseerd op literatuurstudie en werden nog niet experimenteel onderzocht.

Een pilootstudie zal uitgevoerd worden in 2025, om de bruikbaarheid van de voorgestelde methoden uit dit onderzoek te toetsen en al dan niet te bevestigen.

SUMMARY

This report provides an overview of ecotoxicological methods for the evaluation of chronic toxicity in sediment through a literature review for the period 2013-2023. On this basis, three methods with sediment organisms are selected for ecotoxicological follow-up research.

For cases of serious sediment pollution, OVAM is currently working on a systematics based on three pillars: dispersion risk, human toxicological risk and ecotoxicological risk. In 2020, substance-oriented “trigger values” were established to proceed to in depth investigation in case of sediment pollution. However, exceeding these trigger values does not necessarily lead to ecotoxicological effects. Furthermore, information (e.g. on bioavailability) on various substances in a complex matrix is often limited or missing.

An ecotoxicological evaluation can address such limitations by investigating the effect of both known and unknown substances on benthic organisms. This evaluation should consider the interactions between the sediment and the surrounding water system. From this literature review, several methods are selected for a follow-up study, taking into account various parameters (including sensitive toxicological endpoints, protocol standardization, duration, cost, ease of use, ecological relevance, availability of organisms, reproducibility, ...).

A test battery of methods for chronic effects on the nematode *Caenorhabditis elegans* and the ostracod *Heterocypris incongruens* was selected for the pilot study on moderately to highly polluted sediments. In addition, the 28-day exposure test with the amphipod *Hyalella azteca* is selected because of its higher sensitivity.

INHOUDSTAFEL

Samenvatting.....	4
Disclaimer	5
Summary.....	6
Inhoudstafel.....	7
Lijst van tabellen.....	9
Lijst van figuren	10
Lijst van afkortingen	11
1 Inleiding	12
2 Achtergrond, doel en afbakening van de studie	13
2.1 Achtergrond.....	13
2.2 Aanpak en doel.....	16
2.2.1 Fase 1: Literatuurstudie - selectie methoden/teststrategie.....	16
2.2.2 Fase 2: Praktijkevaluatie via casestudies.....	17
2.2.3 Fase 3: Rapportage en voorstel vervolgonderzoek	17
2.3 Afbakening van de studie	17
3 Methodologische aanpak	18
3.1 Literatuurstudie	18
3.2 Evaluatie van methoden.....	18
4 Resultaten.....	22
4.1 Literatuurstudie	22
4.2 Ecotoxicologische methoden voor sediment evaluatie	24
4.2.1 Overzicht van methoden uit de literatuurstudie.....	24
4.2.2 Evaluatie van een selectie van methoden.....	31
4.2.3 Voorstel van methoden in functie van scenario stroomschema.....	33
Literatuurlijst	35
Bijlage A – zoekstrategie in Web of Science.....	41

Bijlage B: fiches voor een selectie van methoden.....	42
Bijlage C: toepassing van methoden voor beoordeling van sediment.....	50

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1:	toelichting bij de parameters in de methode fiches.....	20
Tabel 2:	toelichting bij de cijferscore voor de evaluatie van geselecteerde parameters voor (sub-)chronische testen.	21
Tabel 3:	geselecteerde bioassays voor chronische toxiciteit van sediment volgens Spier (2004).....	23
Tabel 4:	overzicht van ecotoxicologische testen voor waterbodembodem uit literatuurstudie.....	28
Tabel 5:	complementaire respons van organismen in een testbatterij volgens tabel 4 uit Wolfram et al. (2012).....	32
Tabel 6:	vergelijkende evaluatie van methoden, via scores voor test parameters.....	33
Tabel 7:	overzicht van gebruikte zoekzinnen en resultaten in WoS (19/07/2023).....	41
Tabel 8:	chronische test met de vlokreeft, <i>Hyalella azteca</i> (F1-HA).....	42
Tabel 9:	chronische test met de dansmug, <i>Chironomus</i> sp. (F2-CR).....	44
Tabel 10:	chronische test met de mosselkreeft, <i>Heterocypris incongruens</i> . (F3-HI).....	46
Tabel 11:	chronische test met de borstelworm, <i>Lumbriculus variegatus</i> (F4-LV).....	47
Tabel 12:	chronische test met de rondworm, <i>Caenorhabditis elegans</i> (F5-CE).	48
Tabel 13:	chronische test met een hogere waterplant, <i>Myriophyllum</i> sp. (F6-MA).....	49
Tabel 14:	vergelijking van organismen en eindpunten per testmethode in sediment contact testen (SCT), zie ook methode fiches in bijlage B.	50

LIJST VAN FIGUREN

Figuur 1: schema voor de inschatting van directe effecten op macrofauna (Vangheluwe M., 2023b).....13

LIJST VAN AFKORTINGEN

BSI	Biotische Sediment Index
CV	Variatiecoëfficiënt
DAEW	Duidelijke Aanwijzing voor Ernstige Bodemverontreiniging Waterbodem
msPAF	Meer Stoffen Potentieel Aangetaste Fractie (module in SEDIAS-model)
SCT	Sediment contact test
SEDIAS	<u>SEDImentASsistent</u> , softwaretoepassing voor de beoordeling van waterbodem, ontwikkeld door het Deltares.
SSD	Species Sensitivity Distribution

1 INLEIDING

Er zijn geen bodemsaneringsnormen beschikbaar voor waterbodem. Er werden in 2020 “triggerwaarden” afgeleid door experts die kunnen gebruikt worden als toetsingswaarden om over te gaan tot een afperkende fase van een waterbodemonderzoek of een beschrijvend bodemonderzoek voor een waterbodem-verontreiniging (OVAM, 2020). Er werd vervolgens voor de onbevaarbare waterlopen een code van goede praktijk uitgeschreven die als handleiding geldt voor onderzoek van een waterbodem en oevers (OVAM, 2022). Deze wordt geactualiseerd, met inbegrip van de bevaarbare waterlopen voor publicatie in 2025.

Na een oriënterend bodemonderzoek of de verkennende fase van een onderzoek van de waterbodem wordt een DAEW (Duidelijke Aanwijzing voor Ernstige Bodemverontreiniging Waterbodem) uitgevoerd. Op basis van de DAEW wordt beslist of een vervolgstap noodzakelijk is. Als uit de DAEW blijkt dat er duidelijke aanwijzingen zijn voor een ernstige waterbodemverontreiniging, dan worden niet alleen de risico's van de waterbodem nagegaan, maar moet ook de verspreiding naar oevers of aanpalende overstromingsgebieden onderzocht worden. De OVAM werkt aan een systematiek voor waterbodems die steunt op drie pijlers, namelijk een inschatting van het verspreidingsrisico, het humaan-toxicologisch risico en het ecotoxicologisch risico.

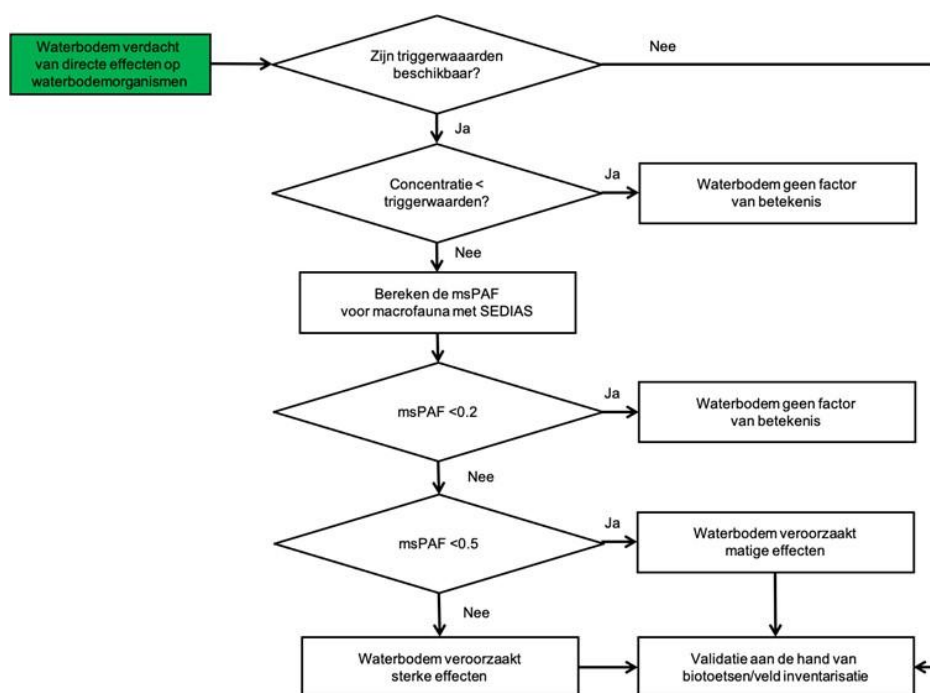
Een stofgerichte aanpak, zoals de meting van “triggerwaarden” heeft beperkingen. De methodiek voor afleiden van triggerwaarden uit historische metingen van chemische stoffen in Vlaamse waterlopen beoogt een veilige ondergrens. Nochtans leidt de overschrijding van deze triggerwaarden niet noodzakelijk tot ecotoxicologische effecten. Verder is de informatie of wetenschappelijke kennis over het voorkomen, de stoffeigenschappen zoals gedrag in complexe matrix, biobeschikbaarheid en toxiciteit (met het biologisch werkingsmechanisme) voor veel opkomende stoffen beperkt, niet altijd even betrouwbaar of volledig afwezig. Dit kan aanleiding geven tot zowel overschatting als onderschatting van potentieel toxicologische effecten.

Een ecotoxicologische evaluatie, als een totaalbenadering voor potentiële effecten op organismen door blootstelling aan het mengsel van gekende en niet-geïdentificeerde schadelijke stoffen in het milieu, komt tegemoet aan voornoemde beperkingen. Zowel de gevoeligheid voor stoffen, als de biologische beschikbaarheid per milieucompartiment kan verschillend zijn tussen organismen van verschillende trofische niveaus. Daarom wordt een batterij van ecotoxicologische testen met verschillende organismen aanbevolen, die representatief is voor het trofisch niveau en die rekening houdt met de interactie waterbodem en de rest van het watersysteem. De ecotoxicologische evaluatie van waterbodem is dus complementair en zeer belangrijk, omdat de waterbodem onderdeel uitmaakt van een belangrijk ecosysteem.

2 ACHTERGROND, DOEL EN AFBAKENING VAN DE STUDIE

2.1 Achtergrond

Als deel van de DAEW-methodiek werd door experts voor de pijler 'ecotoxicologisch risico' het volgende stroomschema voorgesteld voor de beoordeling van de mogelijk negatieve impact veroorzaakt door de chemische stoffen aanwezig in de waterbodem (Figuur 1).



Figuur 1: schema voor de inschatting van directe effecten op macrofauna (Vangheluwe M., 2023b).

De volgende stappen komen aan bod in de getrapte benadering die werd ontwikkeld en voorgesteld in het rapport van Vangheluwe M. (2023b). Belangrijke stappen in het schema steunen op beschikbare triggerwaarden, en berekende msPAF waarden (meer stoffen potentieel aangetaste fractie) die hierna in detail worden toegelicht.

Er wordt in een 1^{ste} stap nagegaan of er directe ecotoxicologische effecten voor de benthische populatie van ongewervelden (macrofauna) kunnen verwacht worden door de gemeten totaalconcentraties aan contaminanten in waterbodem te toetsen aan een grenswaarde, de zogenaamde triggerwaarden (OVAM, 2020). De triggerwaarde voor een contaminant, die afgeleid werd uit een uitgebreide dataset van VMM van de Biotische Sediment Index (BSI), is een concentratie waaronder geen aanzienlijke effecten op de aanwezige biota (macrofauna) worden verwacht (BSI > 6). Nochtans bieden de triggerwaarden niet noodzakelijk informatie over een oorzakelijk verband tussen de concentraties aan contaminanten en de kans op effecten. Het overschrijden van de triggerwaarden betekent dan ook niet dat er ecotoxicologische effecten zullen plaatsvinden, maar zijn eerder een indicatie voor verder onderzoek. Bovendien houden de triggerwaarden geen rekening met mogelijk schadelijke effecten op andere organismen, zoals kleinere waterbodemorganismen (< 0.5 mm), pelagische organismen, of effecten op hogere trofische niveaus, en effecten via doorvergiftiging in predatoren of humane effecten. Er zijn niet voor alle stoffen triggerwaarden afgeleid, en wanneer triggerwaarden ontbreken voor contaminanten

aanwezig in verhoogde concentraties, dan kan beslist worden om rechtstreeks biotoetsen en/of veldstudies uit te voeren.

In een 2^{de} stap wordt bij een overschrijding van de triggerwaarde een berekening uitgevoerd van de msPAF of de “Meer Stoffen Potentieel Aangetaste Fractie”, door gebruik te maken van een module in het Nederlandse SEDIAS model. De msPAF is een maat voor de potentiële toxische druk op het ecosysteem, en het betreft vooral directe effecten op (lagere) waterorganismen. Het PAF concept werd oorspronkelijk uitgewerkt door het RIVM en is gebaseerd op het principe van soortgevoeligheidsverdeling (Species Sensitivity Distribution, of afgekort SSD), die een relatie legt tussen stoffen en effecten. Dit laat toe het ecologisch risico bij alle graden van verontreiniging op éénzelfde schaal uit te drukken, namelijk van 0 tot 100% potentieel aangetaste fractie. Bij de toepassing van de ‘Meer Stoffen Potentieel Aangetaste Fractie’ (msPAF)-methodiek worden de PAFs van de individuele mengselcomponenten (PAFi) gecombineerd op basis van het concept van onafhankelijke random gebeurtenissen tot een ‘meer stoffen Potentieel geAffecteerde Fractie’ (msPAF). Het huidige SEDIAS-model bevat voor een beperkt aantal stoffen soortengevoeligheidsdistributies om de msPAF te berekenen (tabblad 5. msPAF), waar ruimte is voor uitbreiding en meer onderbouwing. Bovendien werd voor de bepaling van de effecten op de macrofauna in Nederland gekozen voor de msPAF op basis van een chronisch EC50-niveau voor macrofauna (langdurige blootstelling met daadwerkelijke effecten). Nochtans wordt voor risicobeoordeling bij voorkeur met EC10 waarden gewerkt, die niet voorhanden zijn in het Nederlandse model. Dit betekent dat de inschatting minder conservatief is en dat bij overschrijding van de voorziene PAF drempels de kans op het voorkomen van negatieve chronische effecten reëel is.

De volgende beslissingstappen worden onderscheiden (Figuur 1):

- msPAF < 0,2: een slechte macrofaunascore kan niet gerelateerd worden aan de waterbodempkwaliteit. Bij een msPAF > 0,2 wordt het schema verder vervolgd.
- msPAF > 0,2 en msPAF < 0,5: negatieve effecten kunnen niet worden uitgesloten. Als maatregelen in de waterbodempkwaliteit om meerdere redenen gunstig kunnen zijn, bijvoorbeeld ook vanwege natuurherstel of recreatie¹, is het zinvol om het effect op macrofauna nader te onderzoeken via biotoetsen/veldmetingen.
- msPAF > 0,5: er moet rekening gehouden worden met sterke effecten. Naast biotoetsen kan dit verder onderbouwd worden met metingen in het veld.

Biotoetsen zijn ecotoxiciteitstesten die op een onverdund staal van de waterbodemp kunnen uitgevoerd worden met het doel directe ecotoxicologisch effecten te evalueren in vergelijking met een referentie waterbodemp die als controle geldt. Vangheluwe M. (2023b) stelt dat bij voorkeur enkel chronische waterbodempcontacttstesten worden uitgevoerd, die een hogere relevantie hebben voor de ecologische risico-evaluatie aangezien de opname van sedimentdeeltjes en subletale eindpunten (zoals groei) in overweging worden genomen. Bovendien zijn chronische ecotoxiciteitstesten representatiever voor langdurige blootstellingssituaties en worden bij voorkeur eindpunten representatief voor populatie effecten in het ecosysteem, zoals reproductie, groei of ontwikkeling meegenomen worden.

Tenzij de ontwikkeling van het triade handboek door VMM (VMM, 2000) is er binnen Vlaanderen geen standaard methodologie voor ecotoxicologisch onderzoek op waterbodemp. Bovendien is de ecotoxicologische pijler van het triade handboek gericht op acute toxicologische eindpunten, naast de chemische en ecologische pijler voor monitoring van waterbodemp. Het betreft een testbatterij van acute testen met groei-inhibitie bij algen en sterfte van het kieuwpootkreeftje na blootstelling aan poriënwater, en bepaling van sterfte met de amfipode *Hyalella azteca* na 10 dagen blootstelling

¹ Werkwijze die voornamelijk in Nederland van toepassing is, maar niet noodzakelijk in Vlaanderen.

aan volledig sediment. Sinds 2002 wordt door VMM een 2^{de} sedimentcontacttest toegevoegd aan deze ecotoxicologische batterij. De 6 dagen test met een andere kreeftachtige soort, het mosselkreeftje *Heterocypris incongruens* waarbij naast sterfte ook groei, als sub chronisch eindpunt gemeten wordt, bleek meer robuust dan de amfipode test. Beide testen werden tijdelijk in parallel uitgevoerd maar ondertussen werd de amfipode test vervangen door de test met het mosselkreeftje. Bovendien toonde De Cooman *et al.* (2015) via evaluatie van internationale studies, en vergelijking van beschikbare VMM-data voor het eindpunt sterfte dat de test met *H. incongruens* even goed is om de schadelijke effecten in sedimenten te voorspellen als de test met *H. azteca*. VMM hanteert momenteel de test met het mosselkreeftje voor monitoring van waterbodems in Vlaanderen. Men maakt hiervoor gebruik van een commerciële testkit. Verder zijn er zover ons bekend binnen Vlaanderen, in opdracht van de OVAM meer recent enkele gevalstudies uitgevoerd waarbij *ad hoc* chronische ecotoxicologische testen met *Hyalella azteca* en/of *Chironomus riparius* geselecteerd werden voor de beoordeling van sediment, eventueel aangevuld met veldstudies (ABO, 2022; Vangheluwe M., 2023a).

Ter onderbouwing van het ecotoxicologische spoor voor risico-evaluatie, als deel van de DAEW-tool en zoals opgenomen in de Code van goede praktijk – Onderzoek waterbodem en oevers (OVAM, 2022), vraagt de OVAM onderzoek naar een geschikte ecotoxicologische methodologie die door deskundigen in samenwerking met erkende laboratoria kan toegepast worden. Een robuuste, wetenschappelijk onderbouwde aanpak is nodig voor de inschatting van het ecotoxicologisch risico volgens het stroomschema (Vangheluwe M., 2023b), naast de inschatting van een humaan risico en/of verspreidingsrisico van waterbodemverontreiniging om te beslissen wanneer sanering noodzakelijk is. Deze studie beoogt een inventaris en kritische evaluatie van testen met organismen voor acute en chronische toxiciteit als deel van het ecotoxicologisch risico, terwijl andere aspecten als bioaccumulatie en doorvergiftiging in de voedselketen niet tot het doel van deze studie behoren.

2.2 Aanpak en doel

Voor een 1^{ste} pilootstudie naar ecotoxicologische methoden voor waterbodem en na overleg met de OVAM heeft VITO de volgende gefaseerde aanpak voorgesteld:



Bij dit onderzoek is de ervaring, uitwisseling van informatie en terugkoppeling van externe experts uit het werkveld essentieel (o.a. Arche Consulting, Ecofide, MicroBioTests). Dit zal plaatsvinden via bilaterale contacten en bespreking op de stuurgroep vergadering, in lijn met de opdracht van de OVAM voor dit project.

Hierna een beschrijving van elke fase van de studie, met de specifieke doelstellingen.

2.2.1 Fase 1: Literatuurstudie - selectie methoden/teststrategie

Doelstellingen fase 1:

- selectie van bruikbare ecotoxicologische methoden;
- voorstel van een teststrategie in het stroomschema met een testplan voor methode evaluatie in fase 2 van dit project.

De aanpak in fase 1 bestaat uit de volgende stappen:

1. Afstemming met de OVAM & stuurgroep over het gebruik en toepassingsdomein(en) van de ecotoxicologische methodiek, met aandacht voor:
 - selectiecriteria bij de keuze van ecotoxicologische testen;
 - testorganismen/toxicologische eindpunten: gevoeligheid, acute versus chronische effecten;
 - beperkingen meetmethode (bijvoorbeeld interferentie van randvoorwaarden);
 - eisen te stellen aan de testmethode: standaardprotocol, duur, kostprijs, gebruiksgemak, ecologische relevantie, beschikbaarheid van organismen, reproduceerbaarheid, ... voor implementatie bij erkende laboratoria.
2. Literatuurstudie naar beschikbare ecotoxicologische methoden en/of teststrategieën voor waterbodem via peer-reviewed publicaties, rapporten en internationale standaarden:
 - evaluatie van methoden uit literatuurstudie;
 - toetsing aan vooropgestelde criteria voor selectie van methoden voor een testscenario;
 - inschatting bruikbaarheid in stroomschema voor ecotoxicologische risico beoordeling.

2.2.2 Fase 2: Praktijkevaluatie via casestudies

Doelstellingen fase 2:

- werkprocedures opstellen en implementatie van geselecteerde methode(n) in VITO laboratoria;
- 1^{ste} evaluatie van de bruikbaarheid van de voorgestelde methodiek op basis van resultaten van enkele casestudies.

De aanpak in fase 2 bestaat uit de volgende stappen:

1. Afstemming qua methode implementatie en aanpak casestudies:

- selectie case studies, en evaluatie testplan (methodes, bemonstering, locaties);
- implementatie en uitvoeren van geselecteerde methode(n) conform test richtlijnen en definitie van test acceptatiecriteria en beoordeling toxiciteit.

2. Uitvoering praktijkstudie:

- bemonstering sediment op 2 à 3 locaties met gekende verontreiniging;
- uitvoering ecotoxicologische testen op waterbodems;
- kritische evaluatie van methoden en resultaten i.f.v. testscenario.

2.2.3 Fase 3: Rapportage en voorstel vervolgonderzoek

Doelstellingen fase 3:

- de bevindingen van fase 1 en fase 2 worden aan de OVAM gerapporteerd;
- aanbevelingen voor mogelijk vervolgonderzoek, met eventueel voorstel van methodes en aanpak voor implementatie door erkende laboratoria.

2.3 Afbakening van de studie

De opdracht van de OVAM was om een voorstel van bruikbare methoden aan te reiken voor evaluatie van ecotoxicologische risico's volgens scenario's in het stroomschema van de handreiking (Vangheluwe M., 2023b). De methoden moeten geïmplementeerd kunnen worden voor uitvoering door erkende ecotoxicologische laboratoria, waar deskundigen beroep op kunnen doen.

Om representatief te zijn voor effecten op lange termijn voor populaties in het ecosysteem zijn methoden met chronische (levenscyclus, reproductie) of subchronische eindpunten in organismen prioritair, met blootstelling aan volledig sediment, of sediment/water fase. Testen op andere matrices, zoals organische extracten van sediment, eluaten of poriewater, of testen met *in vitro* modelsystemen (celcultuur) werden niet weerhouden.

Hoewel de literatuurstudie relatief breed werd opgezet, lag de focus bij de evaluatie van methoden op aspecten als standaardisatie, reproduceerbaarheid, beschikbaarheid testorganismen, toepassing door meerdere laboratoria om de bruikbaarheid te staven. Methodes die nauwelijks toegepast worden, of in de fase van ontwikkeling zijn, of gebruik maken van gevoelige, doch ecologisch zeer relevante organismen die in het veld worden gevangen (bijvoorbeeld haften, pissebedden) werden niet weerhouden voor evaluatie in de context van deze studie.

Sommige scenario's van waterbodempvervuiling vereisen een diepgaande analyse van ecotoxicologische risico's, bijvoorbeeld kansen op doorvergiftiging door gehalogeneerde koolwaterstoffen, of voor gebieden van hoge natuurbeschermingswaarde (zie Code van goede praktijk, OVAM (2022)). Hiervoor zijn specifieke methoden vereist, die beperkt toepasbaar zijn (maatwerk) en niet binnen het bestek van deze studie vallen.

3 METHODOLOGISCHE AANPAK

3.1 Literatuurstudie

Om een actueel overzicht te krijgen van bruikbare methoden voor ecotoxicologisch onderzoek van waterbodem werd informatie via verschillende kanalen verzameld. De belangrijkste zijn een zoekstrategie naar wetenschappelijke publicaties voor de periode 2013-2023 via de database 'Web of Science' (WoS), een zoekopdracht naar relevante rapporten van internationale overheden via het internet, en inventarisatie van standaarden voor methoden via websites van onder meer OECD, ISO, US EPA.

De gebruikte zoekzinnen in WoS zijn te vinden in Tabel 7 in bijlage A.

De resultaten uit WoS werden opgeladen in een Endnote database. Via titel en abstract evaluatie met toepassen van een aantal selectiecriteria overeenkomstig het doel van de studie, werden de meest relevante publicaties geselecteerd.

Van de geselecteerde studies werd de volledige publicatie (pdf) opgevraagd voor verwerking. Bij lezing van de geselecteerde publicaties of rapporten werden uit de referentielijsten bijkomend, soms minder recente publicaties gemarkeerd en opgevraagd voor aanvullende methodologische informatie.

Een 15-tal publicaties en rapporten beschikbaar gesteld via de OVAM of gedeeld via leden van de stuurgroep werden eveneens gescreend voor bruikbare methoden.

Voor de meest relevante, en veel gebruikte methoden werden methode fiches aangemaakt die beschikbare literatuurinformatie bundelen voor een aantal parameters (Bijlage B). Gegevens van een aantal relevante parameters werden gebruikt voor een vergelijkende evaluatie van methoden via een scoretabel.

3.2 Evaluatie van methoden

De literatuurstudie leverde een aantal methoden voor onderzoek van waterbodem, met potentieel voor toepassing bij het inschatten van ecotoxicologische risico's. In het kader van deze studie bekijken we 2 verschillende scenario's, waarbij methoden inzetbaar moeten zijn door erkende ecotoxicologische laboratoria in opdracht van deskundigen.

In het stroomschema (Vangheluwe M., 2023b) zijn de volgende 2 scenario's na aftoetsen van triggerwaarden, en berekenen van een msPAF waarde belangrijk:

- 1) msPAF > 0,5: er moet rekening gehouden worden met sterke effecten.
- 2) msPAF > 0,2 en msPAF < 0,5: negatieve effecten kunnen niet worden uitgesloten.

In het 1^{ste} geval kunnen testen die relatief snel een respons geven (subchronische blootstelling) volstaan om een te verwachten sterk effect op te pikken. In het 2^{de} geval zijn meer gevoelige testen, die effecten op lange termijn na chronische blootstelling of reproductie eindpunten in een levenscyclus test meten, eerder aan de orde.

De bruikbaarheid van dergelijke getrapte benadering zal blijken bij uitvoering van de praktijkstudies. In overleg met de OVAM en de stuurgroep werd beslist in een 1^{ste} pilotstudie eenzelfde batterij van testen toe te passen voor al de verschillende condities (msPAF) of scenario's zodat resultaten van elk van de testen onderling kunnen vergeleken worden.

Met het oog op een objectieve evaluatie werden parameters gedefinieerd in overleg met de opdrachtgever die moeten helpen om bruikbare methoden voor respectievelijk testscenario 1) en 2)

te selecteren op basis van verzamelde gegevens in deze studie. Er zijn verder een aantal parameters die eerder beschrijvend zijn qua type methode. Deze gegevens zijn in de context van het samenstellen van een batterij bijkomend van belang qua complementariteit en representativiteit voor het ecosysteem (bijvoorbeeld taxonomische groep, levenswijze met blootstellingsroute...). Hierna in de tabel volgt het overzicht van de methode parameters die in de fiches werden gebruikt (Tabel 1).

Bij de definitie en keuze van parameters die we hanteren om een scoretabel op te stellen hebben we ons gebaseerd op eerder VITO werk (Witters H., 2015) en een studie in Nederland naar de selectie van chronische bioassays voor zoete sedimenten (Spier, 2004). De selectie van parameters met een voorstel van cijferscore en toelichting wordt in een volgende tabel gegeven (Tabel 2).

Er wordt per parameter een voorstel van kwalitatieve of kwantitatieve beoordelingschaal samengesteld die overeenkomt met een cijferscore. Finaal zal dit een totaalscore opleveren per methode die kan helpen bij het prioriteren van methoden. Rekening houdend met het specifieke doel van de testen, bijvoorbeeld test scenario's 1) of 2) kunnen bepaalde parameters belangrijker zijn. Desgewenst zou men bijkomend bepaalde wegingsfactoren kunnen toekennen voor sommige parameters.

Verder werd rekening gehouden met opmerkingen binnen de stuurgroep bij een 1^{ste} voorstelling van de scoretabel. De grootte van de cijferscores voor ecologische relevantie werden verminderd (weinig testen beschikbaar met lokale organismen voor uitvoering in standaardcondities), en de parameter 'kostprijs – uitvoering' werd niet gescoord vermits deze in grote mate overeenkomt met de duur van een test, en er nauwelijks prijzen per test ter beschikking zijn. Bovendien kan de kostprijs op korte termijn sterk verschillen eens er meer vraag komt naar het uitvoeren van deze ecotoxicologische testen.

Tabel 1: toelichting bij de parameters in de methode fiches.

Parameter	Toelichting
Naam	Type test met het gebruikte organisme
Taxonomische groep	Gegevens over systematische indeling (familie, orde...)
Soort	Naam van de soort (Latijn, Nederlands)
Duur	De duur van de blootstelling aan het milieumonster (dit is verschillend van de doorlooptijd die indirect in rekening wordt gebracht bij het criterium Kostprijs-uitvoering)
Toxicologische eindpunten	Type biologisch effect wat gemeten wordt op bepaalde tijdstippen gedurende en/of op het einde van de test
Principe	Korte samenvatting van de testopzet, en uitvoering van metingen
Matrix	Aard van het blootstellingsmedium
Randvoorwaarden matrix	Gegevens over fysico-chemische eigenschappen van het blootstellingsmedium die beperkend zijn voor het organisme, en die bijvoorbeeld kunnen bijdragen tot hoge achtergrond effecten ("threshold")
Ecologische relevantie	Het al of niet voorkomen van de soort in de Vlaamse en/of Europese waterbodems, en de levenswijze of relevante blootstellingsroute in waterbodem
Relatieve gevoeligheid	Gegevens over gevoeligheid voor bepaalde stoffen of stofgroepen, en over relatieve gevoeligheid bij vergelijking met andere testorganismen onder analoge condities. Een hogere gevoeligheid als gevolg van een chronische blootstelling (langere duur) of type eindpunt (groei versus reproductie in levenscyclus test) worden niet beschouwd, vermits vervat in andere parameters als 'Duur' of 'Toxicologische eindpunten'.
Reproduceerbaarheid (validatie)	Gegevens van ringtesten, bijv. variatiecoëfficiënten (CV) bij interlaboratorium vergelijkingen, andere aspecten i.v.m. methode validatie
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	Beschikbaarheid van een publiek beschikbare standaard, goedgekeurd door een internationale organisatie als ISO, OECD... en/of uitvoering van een ringtest
Toepassing sediment beoordeling	Methode wordt gebruikt voor evaluatie van 'in situ' verzameld sediment, met de literatuurreferenties
Beschikbaarheid organisme	Commercieel beschikbaar (geen kweek vereist), publiek beschikbaar maar nodig om een laboratorium kweek aan te leggen, kan niet gekweekt worden en moet in het veld verzameld worden.
Kostprijs -uitvoering	Raming van kosten van goederen voor uitvoering van de test, en raming van personeelsinspanning bij uitvoering, inclusief de voorbereidingen (= doorlooptijd)
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Specifieke toestellen voor deze test (buiten standaard labomateriaal en infrastructuur in een ecotoxicologisch labo als bijvoorbeeld gethermostatiseerde ruimte of incubator), en noodzakelijke opleiding
Andere opmerking	

Het moet duidelijk zijn dat de matrix van parameters en scoretabel, met eventueel wegingsfactoren een arbitrair hulpmiddel is om een totaalscore per methode te genereren. Het resultaat geeft een indicatie van de meest bruikbare methoden in de context van dit project, maar moet steeds voldoende kritisch bekeken worden. Men moet rekening houden met de aard (kwantitatief versus kwalitatief) en de beschikbare informatie resulterend uit de huidige literatuurstudie (2013-2023).

Tabel 2: toelichting bij de cijferscore voor de evaluatie van geselecteerde parameters voor (sub-)chronische testen.

Parameter	Cijferscore	Toelichting bij criteria voor de score per parameter
Duur	7	< 1 week
	5	≥ 1 week
	3	≥ 3 weken
	1	≥ 5 weken
Toxicologische eindpunten²	5	Levenscyclus (meerdere generaties)
	3	Reproductie (aantal, overleving nakomelingen, ontwikkeling levensstadia...)
	1	Groei/biomassa (en sterfte)
Randvoorwaarden matrix	5	Niet tot beperkt kritisch
	3	Kritische factoren geïdentificeerd
	1	Geen of onvoldoende informatie
Ecologische relevantie	3	Inheems en representatief voor ecosysteem
	2	Inheems maar niet representatief voor ecosysteem/Uitheems maar representatief voor ecosysteem
	1	Uitheemse soort, of niet representatief voor ecosysteem
Relatieve gevoeligheid (vergelijk t.o.v. andere organismen in testbatterij, stofgroepen)³	4	Hoger dan gemiddeld (vergelijking soort organisme)
	3	Geen duidelijk verschil met andere organismen
	2	Lager dan gemiddeld (vergelijking soort organisme)
	1	Geen of onvoldoende informatie
Reproduceerbaarheid (validatie)	4	Intra – en/of Interlab studies met CV (variatiecoëfficiënt) < 50%
	2	Intra – en/of Interlab studies met CV>50% (of andere documentatie over onvoldoende reproduceerbaar)
	1	Geen of onvoldoende informatie
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	7	Standaard of richtlijn, met testacceptatiecriteria en ringtest uitgevoerd, en/of definitie van “threshold” voor effect
	5	Standaard of richtlijn, en ringtest uitgevoerd
	3	Gegevens ringtest met protocol, of standaard beschikbaar
	1	Geen standaard of richtlijn, geen ringtest of onvoldoende informatie
Toepassing sediment beoordeling	5	Meerdere studies, toepassing in testbatterij
	3	Beperkt aantal studies
	1	Geen of onvoldoende informatie
Beschikbaarheid organisme	5	Organisme is commercieel beschikbaar, en geen laboweek vereist (ad-hoc test uitvoering mogelijk)
	3	Organisme is commercieel/publiek beschikbaar, maar labo-onderhoud & opstart kweek is vereist
	1	Organismen niet vrij beschikbaar (te vangen in het veld, beperking seizoen...)
Kostprijs - uitvoering	/	Niet weerhouden voor berekening van een score: het resultaat is ongeveer evenredig met de duur van de test, en gegevens zijn niet beschikbaar voor een meerderheid van de testen
Implementatie (infrastructuur / opleiding⁴)	5	≤ 5000 €
	3	> 5000 €
	1	> 10000 €

² Score ook gerelateerd aan ‘absolute’ gevoeligheid, waarbij langere blootstelling en chronische eindpunten doorgaans resulteren in hogere gevoeligheid (testspecifiek)

³ Relatief verwijst naar onderlinge vergelijking binnen beschikbare studies, met vnl. complexe vervuiling via huidig literatuuronderzoek (niet gericht op specifieke polluenten, bijvoorbeeld resultaten SSD).

⁴ Kost voor opleiding wordt voor de eenvoud aan 1000 € per dag gerekend, infrastructuur wijst op gespecialiseerde inrichting of dure toestellen die niet voorhanden zijn in een klassiek ecotoxicologisch labo

4 RESULTATEN

4.1 Literatuurstudie

De resultaten uit WoS (#536) werden opgeladen in een Endnote database, waar via titel en abstract evaluatie de meest relevante publicaties werden geselecteerd.

Een meerderheid van publicaties, die toegespitst waren op volgende onderwerpen werden uitgesloten voor verdere evaluatie:

- geochemische aspecten met ondermeer C- of nutriënt fluxen in sedimenten;
- depositie, hergebruik en risico-evaluatie van baggerspeciën;
- studies beperkt tot acute eindpunten in organismen;
- studies voor estuariene of zoutwater sedimenten;
- *in vitro* studies, doorgaans toegepast op waterige of organische extracten van sediment;
- bioaccumulatiestudies of biomerkerstudies in organismen, zonder informatie over chronische eindpunten als groei of reproductie in organismen,
- studies beperkt tot testen op poriënwater, eluaten of organische extracten van sediment vermits biobeschikbaarheid van pollutanten kan gewijzigd zijn;
- studies met niet-inheemse, of exotische soorten in andere werelddelen als Azië, Zuid-Amerika...;
- karakterisatie en risico-evaluatie van sedimenten, zonder bruikbare informatie over de ecotoxicologische methoden;
- veldstudies of micro-/mesocosm studies in verband met ecologische impact;

Van de resterende abstracts (#56) werd de volledige publicatie (pdf) opgevraagd voor verwerking. Bij lezing van de geselecteerde publicaties of rapporten werden uit de referentielijsten nogmaals een 20-tal relevante, soms minder recente publicaties weerhouden en opgevraagd voor evaluatie van methodologische informatie. Een 15-tal publicaties en rapporten beschikbaar gesteld via de OVAM of gedeeld via leden van de stuurgroep werden eveneens gescreend voor bruikbare methoden. Het overzicht van de gebruikte publicaties, rapporten en standaarden voor evaluatie van de relevantie en hun bruikbaarheid voor ecotoxicologisch onderzoek van waterbodem in de context van dit project blijkt uit de literatuurlijst opgebouwd via Endnote in dit rapport.

Bij de literatuurstudie werden eerst beschikbare rapporten nagekeken voor een methodologische aanpak van ecotoxiciteit in waterbodem, die internationaal toegepast wordt. Een recente literatuurstudie, gebaseerd op enkele internationale overzichtsrapporten geeft een lijst van een 7-tal procedures voor de risicobeoordeling van sediment die internationaal gehanteerd worden (Australië, Canada, Nederland, Noorwegen en Verenigde Staten). Specifieke details over de methoden ontbreken, of het betreft verwijzing naar standaarden. Het gebruik van ecotoxicologische testen, meestal als deel van een stapsgewijze aanpak, komt aan bod. De toepassing van de 28 dagen toxiciteitstest met de amfipode *Hyalella azteca* of vlokreeft blijkt het meest gangbaar in elk van de landen (Van Gestel, 2020).

In sommige landen is er een doorgedreven toxicologische aanpak beschreven, zoals gepubliceerd door Breedveld G. (2018) voor Noorwegen. Het betreft verschillende niveaus van screening met diverse organismen. In een 1^{ste} screeningsniveau, met prioriteit voor de ecologische impact, worden acute toxiciteitstesten op poriënwater ingezet in parallel met toetsing van chemische parameters. Er moeten minstens 2 van 3 testen met verschillende organismen, nl. groei-inhibitie voor één algensoort (*Skeletonema costatum*) en sterfte bij de invertebraten, het roeipootkreeftje (*Tisbe battagliai*) of een tweekleppige (*Crassostrea gigas*) uitgevoerd worden. In geval er aanwijzing is voor vervuiling met dioxine of dioxine-achtige verbindingen wordt ook een cellulaire test (DR-Calux)

uitgevoerd die toegepast wordt op organische extracten van het sediment. In het 2^{de} niveau wordt het totale sediment getest met een invertebratentest voor subchronische eindpunten als sterfte, activiteit of ingraafgedrag na 10 dagen blootstelling, met respectievelijk de borstelworm *Arenicola marina* of het roeipootkreeftje *Corophium volutator*. Deze getrapte aanpak, en gebruik van een diversiteit van organismen is relevant, maar van toepassing voor brakke en zoutwater ecosystemen.

De Nederlandse studie met een kritische evaluatie en selectie van bioassays voor chronische toxiciteit van zoetwater sediment is oud, maar mogelijk een beter uitgangspunt voor dit project (Spier, 2004). Een gedetailleerde evaluatie aan de hand van parameters en criteria werd gemaakt voor beschikbare bioassays met algen, macrofyten, bentische fauna (nl. nematoden, dansmuggen, borstelwormen, tweekleppigen, slakken, haften kreeftachtigen) en vissen. In de tabel hierna wordt het overzicht gegeven van de geselecteerde bioassays, met beschrijving van kennishiaten en aandachtspunten.

Tabel 3: geselecteerde bioassays voor chronische toxiciteit van sediment volgens Spier (2004)

Taxonomische groep	Bioassay	Kennishiaten	Opmerkingen
Benthische algen		ja	Geen echte 'whole sediment' assays of relevante soorten
Macrofyten	<i>Elodea sp.</i>	ja	Onderzoek inheemse helofyt gewenst, relatie waterbodembodem, kientesten
Benthische fauna			
Nematoden	<i>Caenorhabditis elegans</i>	nee	
Dansmuggen	<i>Chironimus riparius</i>	nee	
Borstelwormen	<i>Tubifex tubifex</i>	nee	
Tweekleppige	<i>Sphaerium corneum</i>	ja	Mogelijk is <i>Pisidium amnicum</i> een goede alternatieve soort
Slakken	<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	ja	Mogelijk interessante Nederlandse soort is <i>Valvata piscinatis</i>
Haften	<i>Ephoron virgo</i>	nee	Onderzoek naar reproductie als parameter gewenst
Kreeftachtige	<i>Hyalella azteca</i>	nee	Mogelijk zijn bentische soorten <i>Chydorus sphaericus</i> of <i>Asellus aquaticus</i> een optie
Vissen	<i>Brachydanio rerio</i>	ja	Als Nederlandse soort kan worden gedacht aan kleine modderkruiper (<i>Cobitis taenia</i>)

Dit overzicht resulteerde in een plan om op korte termijn (< 2006) 5 testen te implementeren waarvoor geen kennishiaten beschreven werden. Het betreft enkel vertegenwoordigers van de bentische fauna met 4 inheemse soorten, uitgezonderd de kreeftachtige *H. azteca* waarvoor geen inheems alternatief beschikbaar is. Een plan voor lange termijn ontwikkelen van bioassays zou moeten aansluiten bij de monitoring van groepen zoals vereist binnen de Kaderrichtlijn Water. Verder wordt de ontwikkeling van een bioassay met een bentische alg, macrofyten (bij voorkeur helofyt) en vis of viseieren/larven voorgesteld (Spier, 2004).

Rekening houdend met de voorgestelde selectie van interessante bioassays door Nederland, werd in de huidige literatuurstudie bijkomend gescreend voor de publicatie van voorgestelde nieuwe

ontwikkelingen en hun toepassingen. Er zijn publicaties van toepassingen, met bestaande of nieuwe standaardrichtlijnen sinds 2004 voor volgende species nematoden (*C. elegans*), dansmuggen (*C. riparius*), borstelwormen (*T. tubifex*) en slakken (*P. antipodarum*) gevonden. Deze komen in volgende sectie aan bod met het overzicht van de meest bruikbare methoden uit de literatuurstudie en hun toepassingen (zie ook Tabel 4).

Voor andere organismen aanbevolen voor lange termijn ontwikkeling van een bioassay, maar waar nog geen standaard richtlijn voorhanden is, leverde de screening van literatuur weinig tot geen bruikbare informatie. Een Russische studie met radioactief en chemisch verontreinigd sediment gebruikt genotoxiciteit en groei-inhibitie (lengte van wortel en scheuten) van waterpest, *Elodea canadensis* als indicator voor toxiciteit (Zotina *et al.*, 2015). Een vergelijkende studie op 16 locaties in Nederland met larven van de dansmug *Chironomus riparius*, pissebedden *Asellus aquaticus* en larven van de haft *Ephoron virgo* werd uitgevoerd (De Lange *et al.*, 2005). De groeirespons van de larven van de dansmug en haft bleek sterk afhankelijk te zijn van de beschikbaarheid van voedsel in de waterfase, waardoor effecten van gecontamineerd sediment gemaskeerd werden als gevolg van groeistimulatie.

Daarnaast zijn er rapporten in het kader van risicobeoordeling van chemische stoffen, waarbij waterbodem of sediment eveneens als ecosysteem compartiment bekeken wordt. ECHA (2014) vestigt de aandacht op het belang van de bescherming van de volledige pelagische, epi-benthische en benthische populaties, waarbij het effect voor een diversiteit van organismen van verschillende trofische niveaus, en levenswijzen moet geëvalueerd worden om meerdere blootstellingsroutes af te dekken. Dit wijst op het belang van een batterij van testen. Een overzicht van sedimenttesten voor registratie van stoffen volgens de REACH wetgeving zijn beschreven in het ECHA guidance document (ECHA, 2017), met verwijzing naar onder meer OECD, ISO, ASTM test richtlijnen. De beschikbaarheid van standaarden of internationale richtlijnen is belangrijk voor meer routinematige toepassing van testen, zodat er een werkprocedure en test acceptatiecriteria voorhanden zijn. Bovendien is de ontwikkeling van een standaard doorgaans het resultaat van doorgedreven methode optimalisatie. Verder zijn validatiestudies met chemische stoffen en ringtesten voor de evaluatie van intralaboratorium en interlaboratorium variabiliteit cruciaal om een beeld te krijgen van de gevoeligheid en de reproduceerbaarheid van een methode. Bij de evaluatie van methoden beschreven in de literatuur werd de beschikbaarheid van een standaard en/of gegevens uit ringtesten in beschouwing genomen, en toegevoegd in de overzichtstabel van methoden (Tabel 4) alsook in de respectievelijke methode fiches (bijlage B).

4.2 Ecotoxicologische methoden voor sediment evaluatie

4.2.1 Overzicht van methoden uit de literatuurstudie

In een volgende tabel wordt een overzicht gemaakt van inventarisatie van de literatuur, met het oog op de selectie van potentieel bruikbare methoden in de context van de opdracht voor de OVAM (Tabel 4).

De belangrijkste karakteristieken van de methoden werden verzameld, met verwijzing naar de overeenkomstige standaard en/of publicatie over methode ontwikkeling of validatie. In de laatste kolom volgt een inventaris van toepassingen, meestal als deel van een batterij bij sedimentstudies. Criteria voor potentieel bruikbare methoden zijn meting van chronische eindpunten (groei, reproductie), blootstelling als sediment contacttest, standaardisatie of validatie en frequente toepassing zoals blijkt uit de literatuur. Methode fiches werden aangemaakt voor een aantal

organismen waarvoor voldoende informatie verzameld werd, overeenkomstig de criteria en met vertegenwoordigers van de verschillende trofische niveaus (tabellen in bijlage B).

De tabel werd samengesteld volgens de belangrijkste groepen van organismen aanwezig in het sediment/water ecosysteem. Op dit moment werd geen onderscheid gemaakt tussen organismen relevant voor stilstaande versus stromende waters, of bodemtype (zand, slib, veen)⁵.

4.2.1.1 Bacteriën

De bacteriële testen, waarvoor een ISO standaard beschikbaar is, worden regelmatig toegepast als deel van een testbatterij bij sediment evaluatie voor een snelle screening van sediment als suspensie. Dit blijkt bovendien uit de overzichtstabel bij vergelijking van testen voor beoordeling van toxiciteit van sedimenten (Tabel 14). Ze worden echter niet verder beschouwd vermits uitsluitend acute effecten gemeten worden hetgeen buiten het doel van deze studie valt.

4.2.1.2 Algen

Er zijn standaardtesten met algen voor toepassing op poriewater van sediment (Tabel 14), maar een sediment contact test met benthische algen werd nog niet in een richtlijn vertaald.

Roig *et al.* (2015) gebruikte een benthische alg, het kiezelwier *Nitzschia palea* volgens een methode met een mariene alg in een sediment contact test voor 72 u groei-inhibitie. Om de meting van algen biomassa uit te voeren wordt fluorescentiemeting uitgevoerd zodat de interferentie met sedimentdeeltjes, in vergelijking met een spectrofotometrische meting, beperkt wordt. In het RIZA-rapport wordt verwezen naar de PAM methode (pulse modified modulation), een indirecte meting van het electronentransport tijdens fotosynthese via fluorescentie (Spier, 2004). Nochtans werden er geen toepassingen gevonden van een bruikbare bioassay met benthische algen.

4.2.1.3 Macrofyten

Er zijn internationale richtlijnen (ISO en OECD) voor sediment contacttesten met waterplanten, met een wortelgestel in het sediment en een bladgedeelte boven het wateroppervlak, wat zal afsterven in de winter. Het betreft een 10 dagen test met het parelvederkruid (*Myriophyllum aquaticum*) volgens ISO16191, of een 21 dagen test met het aarvederkruid (*Myriophyllum spicatum*) volgens OECD239 voor spiken van sediment met chemische stoffen. Een methode fiche met meer details is beschikbaar in bijlage B (Tabel 13).

Hoewel de test gestandaardiseerd werd blijkt bij resultaten van ringtesten (Ratte, 2012; Ratte M., 2013) en andere ervaringen bij onder meer Centre Ecotox in Zwitserland dat deze test nog verdere optimalisatie vereist.

Bij de vergelijkende evaluatie voor toepassingen op sediment komen andere testen aan bod (Tabel 4, Tabel 14). Er is een toepassing voor sediment evaluatie met de eendenkroos test met *Lemna minor*, een waterplant die drijft in het water (geen wortel) en waarvoor een ISO en OECD richtlijn bestaat (Stesevic *et al.*, 2007). Ook wordt de Phytotox kit, een commerciële testkit met 3 terrestrische planten toegepast voor sediment evaluatie (Baran & Tarnawski, 2015; Singh *et al.*, 2015). Beide testen worden niet weerhouden als bruikbaar aangezien de testorganismen niet relevant zijn voor blootstelling via de waterbodem, zoals de bedoeling moet zijn in een sediment contacttest.

4.2.1.4 Benthische fauna: nematoden

Een chronische test met de rondworm *Caenorhabditis elegans* werd ontwikkeld voor meting van groei en reproductie na 4 dagen blootstelling. Een standaard richtlijn is beschikbaar (ISO en ASTM) voor testen van zowel bodem als sediment. Dit organisme is een veel gebruikt laboratorium

⁵ Mogelijk aandachtspunt bij de casestudies, informatie beschikbaar in RIZA-studie (Spier, 2004).

organisme, en kan gemakkelijk zonder veel onderhoud op agar platen in cultuur gehouden worden. De test wordt regelmatig toegepast voor sediment evaluatie, terwijl er veel kennis beschikbaar is over de invloed van randvoorwaarden als effecten van korrelgrootte, organisch gehalte. Via het werk van (Höss *et al.*, 2010) met referentiesedimenten van variabele samenstelling is een threshold voor effect van respectievelijk 25% voor eindpunt groei, en 50% voor eindpunt reproductie gedefinieerd. Een methode fiche voor deze test bevat verdere technische details (Tabel 12).

4.2.1.5 Benthische fauna: oligochaeten

Er zijn 28 dagen chronische testen beschreven voor meting van groei en reproductie met 2 vertegenwoordigers in de groep van de borstelwormen, nl. *Tubifex tubifex* en *Lumbricus variegatus* (ASTM, ISO). Voor deze laatste blijkt uit de literatuurstudie iets meer ervaring voor toepassing bij beoordeling van sedimenten (Tabel 14) en werd een methode fiche gemaakt (Tabel 11). Zoals de rondworm, zijn deze borstelwormen iets minder gevoelig dan andere benthische invertebraten, maar als sedimentbewoners vertegenwoordigen ze een complementaire blootstellingsroute via zowel ingestie van deeltjes of detritus, en huidcontact via poriewater. In de handleiding van sediment testen door US EPA wordt de broze slibworm *Lumbricus variegatus* beschreven als testorganisme voor bioaccumulatie metingen (EPA, 2000).

4.2.1.6 Benthische fauna: diptera

Er zijn diverse chronische sediment testen met verschillende soorten dansmuggen, zowel beschreven in ISO-, OECD-, EPA- of ASTM-richtlijnen. De blootstellingsduur kan, afhankelijk van het te meten eindpunt namelijk overleving en groei, ontwikkeling en uitvliegen, of levenscyclus studie met meerdere generaties 10 dagen tot 100 dagen bedragen (Tabel 4). Met dit organisme is er relatief veel praktijkervaring, en maakt regelmatig deel uit van een testbatterij voor sediment beoordeling zoals blijkt uit de literatuurstudie (Tabel 14). Een methode fiche werd gemaakt (Tabel 9).

4.2.1.7 Benthische fauna: haften

Haften zijn gevoelige, representatieve bewoners van waterbodembodem en een 10 dagen overleving en groei test met schoraas, *Ephoron virgo* werd in de RIZA-studie beschreven, terwijl ontwikkeling van een langere test met reproductie eindpunten gepland werd (Spier, 2004). Bij onze literatuurstudie bleek echter weinig tot geen nieuwe informatie over testen met haften, tenzij een oudere studie voor groei en ontwikkeling van schoraas (De Lange *et al.*, 2005). Een andere vergelijkende studie met 3 verschillende levensstadia van *Hexagenia* toont voor mortaliteit door bifenthrine een gevoeligheid die ligt tussen die van de amfipode *Hyaella azteca* en de dansmug *Chironomus dilutus* (Harwood *et al.*, 2014). Verder blijkt er een ASTM standaard test met ééndagsvlieg, *Hexagenia sp.* voor 21 dagen blootstelling en meting van groei en ontwikkeling (als vervelling) ter beschikking te zijn, maar toepassing in sediment studies werd in de huidige literatuurstudie niet opgepikt. Dit heeft mogelijk te maken met de beschikbaarheid van haften als testorganismen, die moeilijk te kweken zijn in laboratoriumomstandigheden (Spier, 2004; Harwood *et al.*, 2014), terwijl vangen in het veld praktische beperkingen heeft (vindplaatsen, seizoen afhankelijk). Bij gebrek aan toepassingen, en bruikbaarheid voor standaardisatie bij labo-toepassingen werd een test met haften niet verder weerhouden in de evaluatie (geen methode fiche).

4.2.1.8 Benthische fauna: kreeftachtigen

Voor de grote groep van kreeftachtigen bleek bij literatuuronderzoek de standaardtest met de amfipode of vlokreeft *Hyaella azteca*, en de ostracod test met mosselkreeft *Heterocypris incongruens* als belangrijkste. Naar analogie met dansmuggen zijn er voor de amfipode standaard richtlijnen voorhanden voor korte en lange blootstellingstijd en verschillende chronische eindpunten gaande van groei en ontwikkeling tot reproductie succes (ISO, EPA, ASTM). Een methode fiche werd

aangemaakt (Tabel 8). De test met de vlokreeft (10 dagen blootstelling) en de 6 dagen test met mosselkreeft werden geruime tijd toegepast door VMM. Op basis van een vergelijkende studie door De Cooman *et al.* (2015) blijkt de snellere standaard test met mosselkreeft, waarvoor eveneens een ISO-protocol voorhanden is, een goed alternatief voor de 10 dagen amfipode test. Bovendien is de amfipode, *Hyalella azteca* een uitheemse soort, die niet wordt teruggevonden in de Europese sedimenten. De test met mosselkreeft heeft het voordeel dat ze aangeboden wordt als testkit, waardoor onderhoud in het labo geen vereiste is, terwijl chronische eindpunten als overleving en groei gemeten worden. Een methode fiche is aangemaakt (Tabel 10).

4.2.1.9 Benthische fauna: slakken

Doorgaans wordt de groep van slakken of tweekleppigen als minder relevant beschouwd voor sediment testen aangezien men vermoedt dat gezien hun foerageergedrag ze eerder afhankelijk zijn van de waterkwaliteit en de kwaliteit van het zwevend stof (Spier, 2004). Nochtans is er een meer recente OECD-standaardrichtlijn (OECD 242) voor chronische eindpunten na 28 dagen blootstelling met de modderslak *Potamopyrgus antipodarum*. Als chronisch eindpunt wordt reproductiesucces, in de vorm van aantal embryo's bepaald. Bovendien werd deze test met langere blootstellingstijd tot 56 dagen in het veld voor sedimentbeoordeling toegepast. Het doel van deze test, zoals blijkt bij toepassingen is om vooral effecten van stoffen met hormoonverstorende eigenschappen op te sporen. Er zijn onvoldoende studies om uitspraak te doen of dit organisme gevoelig is voor een breed spectrum van organische en anorganische vervuiling. Tenzij voor specifieke gevalstudies met verdacht voorkomen van hormoonverstoorders werd deze test met de modderslak niet weerhouden (geen methodefiche) als bruikbaar in de context van dit OVAM-project.

4.2.1.10 Benthische fauna: vertebraten

In deze groep worden er vistesten gebruikt voor evaluatie van sedimenten, hoewel wegens hun levenswijze niet representatief als sediment organisme. Nochtans is de test ontwikkeling door Hollert *et al.* (2004) met blootstelling van viseitjes van zebra visembryo *Danio rerio* als sediment contacttest, met meting van chronische eindpunten voor groei een benadering voor detectie van toxische effecten na contact met pollutanten geadsorbeerd met deeltjes, of uitgewisseld in een sediment/water fase. Deze ontwikkeling is gebaseerd op een beschikbare test richtlijn (DIN 38415-6). De test werd beperkt toegepast in een batterij (Tabel 14), en werd voor dit project niet weerhouden als bruikbaar wegens technische artefacten door blootstelling en niet representatief organisme voor Europese sedimenten.

Tabel 4: overzicht van ecotoxicologische testen voor waterbodembodem uit literatuurstudie (*methode fiche in bijlage B).

Taxonom. groep	Soort	Matrix	Duur blootstelling	Toxicologische eindpunten	Standaard / Richtlijn	Referenties (methode, toepassing)
Bacterie						
	<i>Arthrobacter globiformis</i>	Sediment in suspensie (20% water)	2 u	Enzyme activiteit via (metabolisme)	ISO 18187, (ISO, 2018)	Feiler <i>et al.</i> (2013)
	<i>Vibrio fisheri</i>	Sediment in suspensie (20% water)	30 min	Licht emissie (metabolisme)	ISO 21338, (ISO, 2010)	Tuikka <i>et al.</i> (2011), Wolfram <i>et al.</i> (2012)
Benthische algen						
	<i>Nitzshia palea</i> (kiezelwier)	Sediment/water fase	72 u	Groei inhibitie (fluorescentie meting)		Roig <i>et al.</i> (2015), volgens methode en ringtest met mariene alg van Araújo <i>et al.</i> (2010)
Macrofyten						
Waterplant (+ wortel)	<i>Myriophyllum aquaticum</i> (parelvederkruid) of <i>Myriophyllum spicatum</i> (aarvederkruid) *(Tabel 13)	Sediment/water	7 d (3 ⁶ + 7)	Groei (biomassa; lengte)	ISO 16191, (ISO, 2013a)	Ratte (2012), Feiler <i>et al.</i> (2012), Feiler <i>et al.</i> (2013), Feiler <i>et al.</i> (2014), Stesevic <i>et al.</i> (2007)
			14 d (7 ¹ +14)		OECD 239, (OECD, 2014)	Ratte (2012),
Waterplant	<i>Lemna gibba/minor</i> (eendenkroos)	Water (toegepast als sed contact test)	7d	Groei	OECD 221, (OECD, 2006) ISO 20079 (ISO, 2005)	Stesevic <i>et al.</i> (2007)
Terrestrische planten	Phytotox kit: 3 soorten <i>S. saccharatum</i> , <i>L. sativum</i> , <i>S. alba</i>	Sediment (of poriewater)	3d	Kieming & groei	~ISO 18673	Baran and Tarnawski (2015) Garcia-Lorenzo <i>et al.</i> (2014) Singh <i>et al.</i> (2017)

⁶ Tijd voorzien voor wortelvorming in sediment, gevolgd door de periode van experimentele blootstelling

Taxonom. groep	Soort	Matrix	Duur blootstelling	Toxicologische eindpunten	Standaard / Richtlijn	Referenties (methode, toepassing)
Benthische fauna - invertebraten						
Nematode	<i>Caenorhabditis elegans</i> (rondworm)	Sediment	4 d	Groei en reproductie	ISO 10872 (ISO, 2021); ASTM E2172-01 (ASTM, 2002)	Höss <i>et al.</i> (2010), Höss <i>et al.</i> (2012), Feiler <i>et al.</i> (2013), Schertzinger <i>et al.</i> (2019), Tuikka <i>et al.</i> (2011), Wolfram <i>et al.</i> (2012), Casado-Martinez C. (2023)
	*(Tabel 12)					
Oligochaeten	<i>Tubifex tubifex</i> (borstelworm)	Sediment/water	28 d	Sterfte, groei, cocon productie	ASTM E1706, A8 (ASTM, 2020)	Maestre <i>et al.</i> (2007)
	<i>Lumbricus variegatus</i> (broze slibworm)	Sediment/water	28 d	Reproductie en groei (biomassa)	OECD 225 (OECD, 2007)	Egeler P. (2005), Feiler <i>et al.</i> (2013), Tuikka <i>et al.</i> (2011), Wolfram <i>et al.</i> (2012)
*(Tabel 11)						
Insecten, diptera	<i>Chironomus sp.</i> (dansmuggen)	Sediment/water (OECD: spiken van sediment)	10-28 d (<i>C. riparius</i>)	Overleving, stadium en groei op 10-14 dagen, Tijd tot ontluiken en aantal ♂ + ♀ organismen op 28 dagen	OECD 218, (OECD, 2023), EPA100.2 (EPA, 2000), ASTM E1706, A3 (<i>C. dilutus</i>) of A6 (<i>C. riparius</i>) (ASTM, 2020)	Babut <i>et al.</i> (2016), He <i>et al.</i> (2016), de Castro-Catala <i>et al.</i> (2016), de Baat <i>et al.</i> (2019), Ingersoll <i>et al.</i> (2015), Liu <i>et al.</i> (2021), Singh <i>et al.</i> (2017), Tuikka <i>et al.</i> (2011), Vangheluwe M. (2023a), Wieringa <i>et al.</i> (2023)
	<i>C. riparius</i> (OECD, ASTM)		28-65 d. (<i>C. tentans</i> = <i>C. dilutus</i>)			
	<i>of</i> <i>C. tentans</i> = <i>C. dilutus</i> (EPA, ASTM)		50-65 d (<i>C. riparius</i>) 100 d. (<i>C. dilutus</i>)	Reproductiecyclus (F1 & F2) met tijd tot ontwikkeling ei-larve, vruchtbaarheid, en ontpoppen en uitvliegen F1 en F2 adulte organismen	OECD233, (OECD, 2010), EPA100.5 (EPA, 2000), ASTM E1706, A4 (<i>C. dilutus</i> , ~100 d) ASTM (2020)	
*(Tabel 9)						
Insecten, haften	<i>Ephoron virgo</i> , larve (Schoraas, familie Polymitarcydiae)	Sediment	10 d	Groei en overleving	/	De Lange <i>et al.</i> (2005)
	Hexagenia spp. (ééndagsvlieg, familie Ephemeridae)	Sediment	21 d	Groei, en vervelling	ASTM E1706, A6 (ASTM, 2020),	

Kreeftachtigen, amfipode	<i>Hyalella azteca</i> (vlokreeft)	Sediment/water	10-14 d	Overleving & groei	ISO 16303, (ISO, 2013b), EPA 100.1, (EPA, 2000) ASTM E1706, A1 (ASTM, 2020), Environm.Canada (Canada, 2017)	Brock <i>et al.</i> (2018) Ingersoll <i>et al.</i> (2015), Nolte <i>et al.</i> (2021), Hu <i>et al.</i> (2021), als poriewater test
			28 d	Overleving & groei		
	*(Tabel 8)		42 d	Reproductie, naast overleving, groei	EPA 100.4, (EPA, 2000) ASTM E1706, A2 (ASTM, 2020)	
Kreeftachtigen, ostracod	<i>Heterocypris incongruens</i> (mosselkreeft)	Sediment/water	6 d	Overleving, groei	ISO 14371, (ISO, 2012),	Baran and Tarnawski (2015), Buitrago <i>et al.</i> (2013), De Cooman <i>et al.</i> (2015), Belgis <i>et al.</i> (2003) Gu <i>et al.</i> (2020), Palma <i>et al.</i> (2023), Singh <i>et al.</i> (2017)
Slakken	<i>Potamopyrgus antipodarum</i> (modderslak)	Sediment/water (OECD-richtlijn beschrijft blootstelling in water)	28 - 56 d	Overleving, reproductiesucces via aantal embryo's, als indicator voor hormoonverstorende stoffen	OECD 242 (28d) (OECD, 2016)	OECD (2016) - 28 d Schmitt <i>et al.</i> (2010) – 56 d Tuikka <i>et al.</i> (2011) Zoukova <i>et al.</i> (2014)-in situ blootstelling 56 d.,
Vertebraten						
Vissen	<i>Brachydanio rerio</i> (Zebra vis embryo/larve)	Sediment contact test, (ook extract, of poriewater)	8 d	Overleving, ontwikkelingsstadia, ontluiken van larven (aanpassing van ISO/DIN qua eindpunten, blootstellingsmedium en tijd)	DIN 38415-6 (DIN38415-6, 2003),	Hollert <i>et al.</i> (2004) Feiler <i>et al.</i> (2013) Schertzinger <i>et al.</i> (2019)

4.2.2 Evaluatie van een selectie van methoden

Aan de hand van beschikbare literatuurinformatie (beperkt tot recentste 10 jaar), zoals gebundeld in methode fiches in bijlage B, worden potentieel bruikbare testen onderling vergeleken via het scoren van meerdere testparameters. Het resultaat van deze beoordeling is te vinden in de volgende tabel, er werden geen wegingsfactoren toegepast (Tabel 6).

Parameters als duur van de chronische test, die in relatie staat tot kostprijs van uitvoering, standaardisatie met goede reproduceerbaarheid, en ervaring met toepassing voor sedimentbeoordeling zijn belangrijk voor de selectie van een bruikbare, betaalbare te implementeren test door een erkend labo. We onderscheiden 2 testen met een hoogste score (≥ 4). Het zijn de testen die binnen 1 week blootstelling kunnen uitgevoerd worden, nl. sterfte en groei bij de mosselkreeft *H. incongruens* (6d.) en groei en reproductie bij de nematode *C. elegans* (4d.). Voor beide testen is er een standaard richtlijn, tonen ringtesten voldoende reproduceerbaarheid en zijn testacceptatiecriteria met threshold voor significante effecten gedefinieerd. Voor het eindpunt reproductie in de nematode test is er echter een hoge threshold voor effect, nl. 50% i.p.v. 20 – 25% voor het eindpunt groei van nematoden, of eindpunten bij andere organismen (Höss *et al.*, 2010; Höss *et al.*, 2012). Dit heeft vooral te maken met variabiliteit van effect door sediment parameters als deeltjesgrootte en organische gehalte, die vals positief kunnen geven. Deze test voor het eindpunt reproductie is dus minder robuust (kleinere werkrange voor detectie van pollutie-gerelateerde effecten), en de keuze van een referentie of controle-sediment met vergelijkbare karakteristieken is uiterst belangrijk. Als er voldoende hoge toxiciteit in het sediment te verwachten is, dan zal de relatief hoge threshold bij de nematode test minder van belang zijn om toxische sedimenten op te sporen, hetgeen het geval kan zijn voor scenario 1 (zie stroomschema Figuur 1, $msPAF > 0.5$).

Anderzijds is de parameter gevoeligheid uiterst belangrijk om toxische sedimenten van controle (artificiële) of referentie sedimenten te onderscheiden. Hogere gevoeligheid van een test, voor hetzelfde organisme is doorgaans gerelateerd aan een langere duur van blootstelling, en complexere eindpunten als ontwikkeling nakomelingen, reproductie succes of multi-generatie effecten in vergelijking met overleving of biomassa (groei). Deze score zit vervat in de score voor het type toxicologische eindpunten, maar wordt opgeheven door de score voor duur van de test. Er werd gekeken naar relatieve gevoeligheid, door de respons van organismen, gebruikt in een chronische test toegepast als sediment contact test (SCT) binnen een testbatterij van meerdere organismen, onderling te vergelijken. De literatuurstudie leverde ongeveer een 15-tal publicaties met SCT toegepast voor een range van 4 tot 21 sediment monsters met diverse aard van organische en /of anorganische pollutie (Tabel 14). In deze studies werden de 10 d sterfte/groei test met dansmug, en de 6 d mosselkreeft test het meeste gebruikt (~25%), gevolgd door de 28 d ontwikkeling test met dansmug en de nematode test (16%). Bij onze eerder beperkte literatuurstudie was slechts 1 publicatie met een batterij van testen, waar ook de vergelijking met de amfipode test voor 10 d en 28 d blootstelling mogelijk was (Ingersoll *et al.*, 2015). Op basis van deze gegevens kunnen we voor dit organisme geen uitspraak doen over relatieve gevoeligheid t.o.v. andere organismen⁷, maar werd in de scoretabel rekening gehouden met feedback van de stuurgroep. Evaluatie van de andere, meer gebruikte testen liet niet toe één van de testorganismen als meer gevoelig te scoren. Een meerderheid van publicaties wijst op het belang van een testbatterij en complementaire respons van organismen. Ter illustratie de resultatentabel uit de publicatie van Wolfram *et al.* (2012) waar 3 testen aan bod komen uit onze scoretabel. Dit duidt op de aanpak met een testbatterij van

⁷ Op basis van feedback op de stuurgroep vergadering werd nochtans de hoogste score gegeven voor de amfipode (bijkomende gegevens om dit te staven werden gevraagd bij Arche).

representatieve organismen voor sediment, waarbij meerdere parameters als het trofisch niveau, type voeding, levenswijze met belangrijkste blootstellingsroutes in rekening worden gebracht.

Tabel 5: complementaire respons van organismen in een testbatterij volgens tabel 4 uit Wolfram et al. (2012)

Significant inhibitory (-) and stimulating (+) effects of the various contaminated sediments compared to the respective reference sediment as determined in six sediment contact tests with various organisms; values in parentheses were not regarded as toxic effects, although significant differences occurred.				
Toxicity test	Elbe	Scheldt	Llobregat	
	PLC	SE	A3	LL4
<i>Vibrio fischeri</i>	-	-	ns	ns
<i>Caenorhabditis elegans</i>	ns	-	ns	-
<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	ns	+	ns	ns
<i>Lumbriculus variegatus</i>	-	ns	ns	-
<i>Chironomus riparius</i>	-	ns	(+)	(+)
<i>Danio rerio</i>	ns	ns	ns	-
Weight of LoE	2	2	1	2
ns = not significant				

De beperkte literatuurstudie enerzijds, en de complexe vervuiling en diversiteit van sediment karakteristieken laten mogelijk niet toe om éénduidige conclusies te trekken over relatieve gevoeligheid van organismen. Het was niet mogelijk binnen deze studie om meer systematisch de respons van organismen te vergelijken wat betreft specifieke stoffen, of stofgroepen. Eventueel zou men, op basis van voldoende chronische gegevens voor SSD⁸ met sediment organismen, naar analogie met de studies voor enkele pesticiden (Brock *et al.*, 2018; Brock *et al.*, 2020).

Bij de keuze van gevoelige testen als een minder sterk effect in de waterbodem verwacht wordt (scenario 2 in het stroomschema, Figuur 1), zullen testen met een langere blootstellingstijd (bijvoorbeeld 28 dagen) en eindpunten voor ontwikkeling of reproductie meer geschikt zijn. Hiervoor komen de testen met oligochaeten, dansmuggen en kreeftachtigen in aanmerking. Aanvullende gegevens over soortgevoeligheid, alsook een keuze in functie van locatiespecifieke vervuiling met advies van de stuurgroep zijn in deze gewenst.

Een test met planten, wegens andere levenswijze, zou aangewezen zijn maar de beperkte ervaring qua toepassing, en informatie i.v.m. nood aan meer optimalisatie tonen dat de standaardrichtlijn met parel – of aarvederkruid, *Myriophyllum sp.* nog niet bruikbaar zijn.

⁸ achtergrondgegevens SEDIAS-model?

Methode parameters	Score	Toelichting - score	Hyalaleia 10-14d sterfte&groei	Hyalaleia 28 d. sterfte & groei, uitkomen	Hyalaleia 42 d. reproductie	Chironim.10-14 d sterfte & groei	Ch. riparius 28 d groei & uitkomen/ontwik	Ch. riparius 44 d. uitkomen, eileg (=reprod)	Heterocypris incongruens 6 d. sterfte & groei	Lumbricus varieg. 28d biomassa & reprod	Caenorhabditis elegans, 4 d. groei & reprod	Myriophyllum sp. 10 d groei
Duur	7	< 1 week	5	3	1	5	3	1	7	3	7	5
	5	≥ 1 week										
	3	≥ 3 weken										
	1	≥ 5 weken										
Toxicologische eindpunten	5	Levenscyclus (meerdere generaties)	1	3	5	1	3	5	1	3	3	1
	3	Reproductie (# & overleving nakomelingen, ontwikkeling levensstadia...)										
	1	Groei/biomassa (en sterfte)										
Randvoorwaarden matrix	5	Niet tot beperkt kritisch	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	3	Kritische factoren geïdentificeerd										
	1	Geen of onvoldoende informatie										
Ecologische relevantie	3	Inheems en representatief voor ecosysteem	1	1	1	3	3	3	3	3	3	3
	2	Inheems maar niet representatief voor ecosysteem/Uitheems maar representatief voor ecosysteem										
	1	Uitheemse soort, of niet representatief voor ecosysteem										
Relatieve gevoeligheid (in vlg testbatterij)	4	Hoger dan gemiddeld (vergelijking soort organisme)	4	4	4	3	3	3	4	2	2	1
	3	Geen duidelijk verschil met andere organismen										
	2	Lager dan gemiddeld (vergelijking soort organisme)										
	1	Geen of onvoldoende informatie										
Reproduceerbaarheid (validatie)	4	Intra – en/of Interlab studies met CV < 50%	4	4	2	4	4	2	4	1	4	2
	2	Intra – en/of Interlab studies met CV>50% (of docum. onvoldoende reproduceerbaar)										
	1	Geen of onvoldoende informatie										
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	7	Standaard of richtlijn, met testacceptatiecriteria en ringtest uitgevoerd, en/of definitie van "threshold" voor effect	5	5	5	5	5	5	5	7	7	7
	5	Standaard of richtlijn, en ringtest uitgevoerd										
	3	Gegevens ringtest met protocol, of standaard beschikbaar										
	1	Geen standaard of richtlijn, geen ringtest of onvoldoende informatie										
Toepassing sediment beoordeling	5	Meerdere studies, toepassing in testbatterij	3	3	1	5	5	1	5	3	5	1
	3	Beperkt aantal studies										
	1	Geen of onvoldoende informatie										
Beschikbaarheid organisme	5	Organisme is commercieel beschikbaar, en geen labokweek vereist (ad-hoc test uitvoering mogelijk)	3	3	3	3	3	3	5	3	3	3
	3	Organisme is commercieel/publiek beschikbaar, maar labo-onderhoud & opstart kweek is vereist										
	1	Organismen niet vrij beschikbaar (eventueel te vangen in het veld, beperking seizoen...)										
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	5	≤ 5000 €	3	3	1	3	3	1	5	1	3	3
	3	> 5000 €										
	1	> 10000 €										
Totaal score			32	32	26	35	35	27	42	29	40	29
Aantal gescoorde parameters			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Gemiddelde score			3,2	3,2	2,6	3,5	3,5	2,7	4,2	2,9	4	2,9

Tabel 6: vergelijkende evaluatie van methoden, via scores voor test parameters

4.2.3 Voorstel van methoden in functie van scenario stroomschema

Een getrapte benadering wordt gesuggereerd voor de beoordeling van sediment volgens het stroomschema (Vangheluwe M., 2023b).

Voor casestudies met aanwijzingen voor sterke vervuiling (msPAF > 0,5) wordt een testbatterij voorgesteld met de volgende 2 SCT:

- 4 dagen chronische test met de nematode, *Caenorhabditis elegans*
- 6 dagen chronische test met de mosselkreeft, *Heterocypris incongruens*

Als deze testen negatief scoren kunnen meer gevoelige testen toegepast worden, met effectmetingen na 28 dagen.

Dergelijke gevoelige testen zijn ook nodig voor casestudies met minder uitgesproken vervuiling (scenario 2, msPAF > 0,2 en msPAF < 0,5). De beperkte literatuurstudie liet niet toe in deze fase van het project één of meer testorganismen te prioriteren voor een 28 dagen test.

In overleg met de OVAM, en op basis van advies van de stuurgroep zal in een beperkte pilootstudie een combinatie van 3 ecotoxicologische testen worden toegepast op dezelfde monsternamenpunten. Na chemische karakterisatie, en msPAF berekeningen zullen punten gekozen worden die voldoen aan de criteria voor respectievelijk scenario 1 (msPAF > 0,5) of scenario 2 (0,2 > msPAF < 0,5) voor simultane en vergelijkende analyse met eenzelfde testbatterij van chronische sediment contact testen.

Naast de testen met de nematode, *Caenorhabditis elegans* en de mosselkreeft, *Heterocypris incongruens* werd vanwege hogere gevoeligheid een 28 dagen test met de amfipode *Hyalella azteca* weerhouden voor het vervolgproject.

LITERATUURLIJST

- ²Araújo, C.V.M., Tornero, V., Lubián, L.M., Blasco, J., van Bergeijk, S.A., Cañavate, P., Cid, Á., Franco, D., Prado, R., Bartual, A., López, M.G., Ribeiro, R., Moreira-Santos, M., Torreblanca, A., Jurado, B. & Moreno-Garrido, I. (2010) Ring test for whole-sediment toxicity assay with -a- benthic marine diatom. *Science of The Total Environment*, **408**, 822-828.
- ASTM (2002) Standard guide for conducting laboratory soil toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*. American Society for Testing and Materials West Conshohocken, PA, USA.
- ASTM (2020) ASTM E1706-20: Standard Test Method for Measuring the Toxicity of Sediment-Associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 162
- Atapaththu, K.S.S., Parveen, M., Asaeda, T. & Rashid, M.H. (2018) Growth and oxidative stress response of aquatic macrophyte *Myriophyllum spicatum* to sediment anoxia. *Fundamental and Applied Limnology*, **191**, 289-298.
- Babut, M., Ferrari, B., Durand, C., Devin, S., Colas, F., Garric, J., Charlatchka, R. & Ferard, J.F. (2016) Towards a tiered framework for an ecotoxicological hazard assessment of fluvial sediments - presentation and early tests. *Houille Blanche-Revue Internationale De L Eau*, 85-100.
- Baran, A. & Tarnawski, M. (2015) Assessment of heavy metals mobility and toxicity in contaminated sediments by sequential extraction and a battery of bioassays. *Ecotoxicology*, **24**, 1279-1293.
- Belgis, Z.C., Persoone, G. & Blaise, C. (2003) Cyst-based toxicity tests XVI—sensitivity comparison of the solid phase *Heterocypris incongruens* microbiotest with the *Hyalella azteca* and *Chironomus riparius* contact assays on freshwater sediments from Peninsula Harbour (Ontario, Canada). *Chemosphere*, **52**, 95-101.
- Breedveld G., R.A., Bakke T., Kibsgaard A. & H.P. Arp (2018) Risk assessment of contaminated sediments - Guidelines. The Norwegian Environment Agency, pp. 106.
- Brock, T.C.M., Belgers, J.D.M., Boerwinkel, M.C., Jollie, L., Kraak, M.H.S., Papo, M.J., Vonk, J.A. & Roessink, I. (2018) Toxicity of sediment-bound lufenuron to benthic arthropods in laboratory bioassays. *Aquatic Toxicology*, **198**, 118-128.
- Brock, T.C.M., Romão, J., Yin, X., Osman, R. & Roessink, I. (2020) Sediment toxicity of the fungicide fludioxonil to benthic macroinvertebrates -evaluation of the tiered effect assessment procedure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **195**, 110504.
- Buitrago, B.H., Munoz, P.F., Ribe, V., Larsson, M., Engwall, M., Wojciechowska, E. & Waara, S. (2013) Hazard assessment of sediments from a wetland system for treatment of landfill leachate using bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **97**, 255-262.
- Canada, E. (2017) Biological Test Method: Test for Survival, Growth and Reproduction in Sediment and Water Using the Freshwater Amphipod *Hyalella azteca* *Report RM/33*. Environment and Climate Change Canada, pp. 203.
- Casado-Martinez C., B.R., Ferrari B.J.D., Cirelli S., Schaad E.J., Chiaia-Hernandez A.C., 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* **4**, 34-41.

- Chial, B. & Persoone, G. (2002) Cyst-based toxicity tests XIV - Application of the ostracod solid-phase microbiotest for toxicity monitoring of river sediments in Flanders (Belgium). *Environ Toxicol*, **17**, 533-537.
- de Baat, M.L., Wieringa, N., Droge, S.T.J., van Hall, B.G., van der Meer, F. & Kraak, M.H.S. (2019) Smarter Sediment Screening: Effect-Based Quality Assessment, Chemical Profiling, and Risk Identification. *Environmental Science & Technology*, **53**, 14479-14488.
- de Castro-Catala, N., Kuzmanovic, M., Roig, N., Sierra, J., Ginebreda, A., Barcelo, D., Perez, S., Petrovic, M., Pico, Y., Schuhmacher, M. & Munoz, I. (2016) Ecotoxicity of sediments in rivers: Invertebrate community, toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. *Science of the Total Environment*, **540**, 297-306.
- De Cooman, W., Blaise, C., Janssen, C., Detemmerman, L., Elst, R. & Persoone, G. (2015) History and sensitivity comparison of two standard whole-sediment toxicity tests with crustaceans: the amphipod *Hyaella azteca* and the ostracod *Heterocypris incongruens* microbiotest. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.*, **15**.
- De Lange, H.J., De Haas, E.M., Maas, H. & Peeters, E.T.H.M. (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.
- DIN38415-6 (2003) German standard methods for the examination of water, waste water and sludge - Subanimal testing (group T) - Part 6: Toxicity to fish; Determination of the non-acute-poisonous effect of waste water to fish eggs by dilution limits (T 6), pp. 13.
- ECHA (2014) Principles for Environmental Risk Assessment of the Sediment Compartment. Proceedings of the Topical Scientific Workshop Helsinki, 7-8 May 2013. In Jose V. Tarazona, B.V., Colin Janssen, Frederik De Laender, Marnix Vangheluwe and Derek Knight (ed), pp. 82.
- ECHA (2017) Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.7b: Endpoint specific guidance. European Chemicals Agency, Helsinki, Finland, pp. 279.
- Egeler P., M.M., Schallnaß H., Gilberg D. (2005) Validation of a Sediment Toxicity Test With the Endobenthic Aquatic Oligochaete *Lumbriculus variegatus* by an International Ring Test. Technical Report FKZ: 202 67 429 GERMAN FEDERAL ENVIRONMENTAL AGENCY pp. 93.
- EPA (2000) Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates. Second Edition. In United States Environmental Protection Agency, O.o.W. (ed), Washington DC, pp. 213.
- Feiler, U., Arts, G., Bazin, C., Belgers, D., Biermann, U., Brauer, F., Casado Martinez, M.C., Doren, L., Eklund, B., Gilberg, D., Grote, M., Hafner, C., Knezevic, V., Kopf, W., Lemnitzer, B., Lepage, G., Liedtke, A., Matthias, U., Okos, E. & Ratte, M. (2012) Sediment contact test with *Myriophyllum aquaticum* (ISO/DIS 16191) : results of an international ring test.
- Feiler, U., Höss, S., Ahlf, W., Gilberg, D., Hammers-Wirtz, M., Hollert, H., Meller, M., Neumann-Hensel, H., Ottermanns, R., Seiler, T.B., Spira, D. & Heininger, P. (2013) Sediment contact tests as a tool for the assessment of sediment quality in German waters. *Environ Toxicol Chem*, **32**, 144-155.
- Feiler, U., Ratte, M., Arts, G., Bazin, C., Brauer, F., Casado, C., Dören, L., Eklund, B., Gilberg, D., Grote, M., Gonsior, G., Hafner, C., Kopf, W., Lemnitzer, B., Liedtke, A., Matthias, U., Okos, E., Pandard, P., Scheerbaum, D., Schmitt-Jansen, M., Stewart, K., Teodorovic, I., Wenzel, A. & Pluta, H.J. (2014) Inter-laboratory trial of a standardized sediment contact test with the aquatic plant *Myriophyllum aquaticum* (ISO 16191). *Environ Toxicol Chem*, **33**, 662-670.

- Garcia-Lorenzo, M.L., Martinez-Sanchez, M.J. & Perez-Sirvent, C. (2014) Application of a plant bioassay for the evaluation of ecotoxicological risks of heavy metals in sediments affected by mining activities. *Journal of Soils and Sediments*, **14**, 1753-1765.
- Gu, Y.L., Tobino, T. & Nakajima, F. (2020) Effect of calcite saturation state on the growth and mortality of *Heterocypris incongruens* and a proposal for an reference artificial sediment in the sediment toxicity test ISO14371. *Science of the Total Environment*, **702**.
- Harwood, A.D., Rothert, A.K. & Lydy, M.J. (2014) Using *Hexagenia* in sediment bioassays: Methods, applicability, and relative sensitivity. *Environ Toxicol Chem*, **33**, 868-874.
- He, L., Wang, R., Zhang, H., Zhang, M., Liu, Y., Zhu, G.R., Cao, T., Ni, L.Y. & Ge, G. (2021) Growth and Anchorage of *Myriophyllum spicatum* L. in Relation to Water Depth and the Content of Organic Matter in Sediment. *Frontiers in Environmental Science*, **9**.
- He, Y., Xu, J., Guo, C.S., Lv, J.P., Zhang, Y. & Meng, W. (2016) Bioassay-directed identification of toxicants in sediments of Liaohe River, northeast China. *Environmental Pollution*, **219**, 663-671.
- Hollert, H., Keiter, S., König, N., Rudolf, M., Ulrich, M. & Braunbeck, T. (2004) A new sediment contact assay to assess particle-bound pollutants using zebrafish (*danio rerio*) embryos. *Journal of Soils and Sediments*, **4**, 94-94.
- Höss, S., Ahlf, W., Bergtold, M., Bluebaum-Gronau, E., Brinke, M., Donnevert, G., Menzel, R., Möhlenkamp, C., Ratte, H.-T., Traunspurger, W., Danwitz, B.v. & Pluta, H.-J. (2012) Interlaboratory comparison of a standardized toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872). *Environ Toxicol Chem*, **31**, 1525-1535.
- Höss, S., Ahlf, W., Fahnenstich, C., Gilberg, D., Hollert, H., Melbye, K., Meller, M., Hammers-Wirtz, M., Heining, P., Neumann-Hensel, H., Ottermanns, R., Ratte, H.T., Seiler, T.B., Spira, D., Weber, J. & Feiler, U. (2010) Variability of sediment-contact tests in freshwater sediments with low-level anthropogenic contamination – Determination of toxicity thresholds. *Environmental Pollution*, **158**, 2999-3010.
- Hu, S.Y., Hsieh, C.Y., Dahms, H.U., Tseng, Y.H., Chen, J., Wu, M.C., Kim, J.H. & Liu, C.H. (2021) Toxic Effects of Heavy Metals and Organic polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediment Porewater on the Amphipod and Zebrafish Embryos from Different Rivers in Taiwan. *Applied Sciences-Basel*, **11**.
- Ingersoll, C.G., Kunz, J.L., Hughes, J.P., Wang, N., Ireland, D.S., Mount, D.R., Hockett, J.R. & Valenti, T.W. (2015) RELATIVE SENSITIVITY OF AN AMPHIPOD *HYALELLA AZTECA*, A MIDGE *CHIRONOMUS DILUTUS*, AND A UNIONID MUSSEL *LAMPSILIS SILIQUOIDEA* TO A TOXIC SEDIMENT. *Environ Toxicol Chem*, **34**, 1134-1144.
- ISO (2005) ISO 20079: Water quality — Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test, ISO.
- ISO (2010) ISO 21338: Water quality — Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (kinetic luminescent bacteria test). Technical committee ISO/TC 147/SC 5, pp. 26.
- ISO (2012) ISO 14371: Water quality — Determination of freshwater-sediment subchronic toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda). Technical committee ISO/TC 147/SC 5, pp. 23.
- ISO (2013a) ISO 16191: Water quality — Determination of the toxic effect of sediment and soil on the growth behaviour of *Myriophyllum aquaticum*. Technical committee ISO/TC 147/SC 5, pp. 26.

- ISO (2013b) ISO 16303: Water quality — Determination of toxicity of fresh water sediments using *Hyalella azteca*. Committee ISO/TC 147/SC 5, pp. 31.
- ISO (2018) ISO 18187: Soil quality - Contact test for solid samples using the dehydrogenase activity of *Arthrobacter globiformis*. Technical Committee ISO/TC 444, pp. 39.
- ISO (2021) ISO 10872: Water and soil quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). Technical Committee CEN/TC 230, pp. 35.
- Janssen C.R., P.G. (2010) INTERNATIONAL INTERLABORATORY COMPARISON ON THE SUBCHRONIC TOXICITY TEST WITH THE FRESHWATER OSTRACOD CRUSTACEAN *HETEROCYPRIS INCONGRUENS*. In Gent, U. (ed), Gent, pp. 16.
- Liu, Z.H., Zhang, C., Xin, Z.H., Tai, P.D., Song, C.C. & Deng, X. (2021) Comparing the Impacts of Sediment-Spiked Cadmium on Chironomidae Larvae in Laboratory Bioassays and Field Microcosms and the Implications for Field Validation of Site-Specific Threshold Concentrations. *Environ Toxicol Chem*, **40**, 2450-2462.
- Maestre, Z., Martinez-Madrid, M., Rodriguez, P. & Reynoldson, T. (2007) Ecotoxicity Assessment of River Sediments and a Critical Evaluation of Some of the Procedures Used in the Aquatic Oligochaete *Tubifex tubifex* Chronic Bioassay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **53**, 559-570.
- Nolte, T.M., Vink, J.P.M., De Cooman, W., van Zelm, R., Elst, R., Ryken, E. & Hendriks, A.J. (2021) Ammonia and chromate interaction explains unresolved *Hyalella azteca* mortality in Flanders' sediment bioassays. *Chemosphere*, **271**.
- 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 (2014) *Test No. 239: Water-Sediment Myriophyllum Spicatum Toxicity Test*.
- OECD (2016) *Test No. 242: Potamopyrgus antipodarum Reproduction Test*.
- OECD (2023) *Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment*.
- OVAM (2020) Waterbodem – Triggerwaarden – Voor verder onderzoek, pp. 26.
- OVAM (2022) Onderzoek van waterbodem en oevers. Code van goede praktijk, pp. 82.
- Palma, P., Penha, A.M., Novais, M.H., Fialho, S., Lima, A., Catarino, A., Mourinha, C., Alvarenga, P., Iakunin, M., Rodrigues, G., Potes, M., Morais, M., Costa, M.J. & Salgado, R. (2023) Integrative toolbox to assess the quality of freshwater sediments contaminated with potentially toxic metals. *Environmental Research*, **217**.
- Ratte M., R.T. (2013) *Myriophyllum spicatum* toxicity test: Results of an inter-laboratory ring test using a sediment-free test system. FKZ: 363 01 294; Final report. Federal Environment Agency; Division IV: Chemical and Biological Safety, pp. 74.
- Ratte, M.H.T.R. (2012) *Myriophyllum* Toxicity Test. Results of a Ringtest Using *M. aquaticum* and *M. spicatum* Grown in a Sediment-Water-System. In (AMEG), S.A.M.E.G. (ed), pp. 131.

- Roig, N., Sierra, J., Nadal, M., Moreno-Garrido, I., Nieto, E., Hampel, M., Gallego, E.P., 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*, **503-504**, 269-278.
- Schertzinger, G., Zimmermann, S. & Sures, B. (2019) Predicted sediment toxicity downstream of combined sewer overflows corresponds with effects measured in two sediment contact bioassays. *Environmental Pollution*, **248**, 782-791.
- Schmitt, C., Balaam, J., Leonards, P., Brix, R., Streck, G., Tuikka, A., Bervoets, L., Brack, W., van Hattum, B., Meire, P. & de Deckere, E. (2010) Characterizing field sediments from three European river basins with special emphasis on endocrine effects – A recommendation for *Potamopyrgus antipodarum* as test organism. *Chemosphere*, **80**, 13-19.
- Singh, P., Nel, A. & Durand, J.F. (2017) The use of bioassays to assess the toxicity of sediment in an acid mine drainage impacted river in Gauteng (South Africa). *Water Sa*, **43**, 673-683.
- Singh, R., Singh, M., Srinivas, A., Rao, E. & Puttanna, K. (2015) Assessment of Organic and Inorganic Fertilizers for Growth, Yield and Essential Oil Quality of Industrially Important Plant Patchouli (*Pogostemon cablin*) (Blanco) Benth. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **18**, 1-10.
- Spier, J.L., Derksen, J.G.M., Lahr, J. en J.L. Maas (2004) Bioassays onder de loep. Selectie van chronische in vivo bioassays voor zoete sedimenten, pp. 87.
- Stesevic, D., Feiler, U., Sundic, D., Mijovic, S., Erdinger, L., Seiler, T.-B., Heininger, P. & Hollert, H. (2007) Application of a new sediment contact test with *Myriophyllum aquaticum* and of the aquatic Lemna test to assess the sediment quality of Lake Skadar. *Journal of Soils and Sediments*, **7**, 342-349.
- Tuikka, A.I., Schmitt, C., Höss, S., Bandow, N., von der Ohe, P.C., de Zwart, D., de Deckere, E., Streck, G., Mothes, S., van Hattum, B., Kocan, A., Brix, R., Brack, W., Barceló, D., Sormunen, A.J. & Kukkonen, J.V.K. (2011) Toxicity assessment of sediments from three European river basins using a sediment contact test battery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74**, 123-131.
- Van Gestel, S. (2020) Risicomodel waterbodem - Literatuurstudie. In OVAM (ed), pp. 15.
- Vangheluwe M., D.V., Teuchies J., Postma J. en C. Nys (2023a) ONDERZOEK RELATIE WATERBODEM-OPPERVLAKTEWATER: GEVALSTUDIES, OVAM, pp. 96.
- Vangheluwe M., T.L., Postma J., Osté L. en C. Nys (2023b) ONDERZOEK RELATIE WATERBODEM -OPPERVLAKTEWATER. Handreiking Vlaanderen. In OVAM (ed), pp. 42.
- VMM (2000) Handboek voor de karakterisatie van de bodems van de Vlaamse waterlopen volgens triade. In VMM (ed). Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap, Afdeling water i.s.m. VMM, pp. 120.
- Wieringa, N., Droge, S.T.J., Bakker, A.M., Melkert, R.A., Prast, B.J., Verdonschot, P.F.M. & Kraak, M.H.S. (2023) Enlarging the Arsenal of Test Species for Sediment Quality Assessment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **110**, 55.
- Witters H., W.R. (2015) Ontwikkeling en demonstratie van snelle, betrouwbare en betaalbare effectgerichte testen voor de karakterisatie van complexe afvalwaters: deel 1 - literatuurstudie. Studie in opdracht van VMM, TWOL project VMM/AELT/2013/03. VITO, pp. 58.
- Wolfram, G., Höss, S., Orendt, C., Schmitt, C., Adámek, Z., Bandow, N., Großchartner, M., Kukkonen, J.V.K., Leloup, V., López Doval, J.C., Muñoz, I., Traunspurger, W., Tuikka, A., Van Liefferinge, C., von der Ohe, P.C. & de Deckere, E. (2012) Assessing the impact of chemical pollution on benthic invertebrates from

three different European rivers using a weight-of-evidence approach. *Science of The Total Environment*, **438**, 498-509.

Zhu, G.R., Cao, T., Zhang, M., Ni, L.Y. & Zhang, X.L. (2014) Fertile sediment and ammonium enrichment decrease the growth and biomechanical strength of submersed macrophyte *Myriophyllum spicatum* in an experiment. *Hydrobiologia*, **727**, 109-120.

Zotina, T.A., Trofimova, E.A., Medvedeva, M.Y., Dementyev, D.V. & Bolsunovsky, A.Y. (2015) Use of the aquatic plant *Elodea canadensis* to assess toxicity and genotoxicity of Yenisei River sediments. *Environ Toxicol Chem*, **34**, 2310-2321.

Zounkova, R., Jalova, V., Janisova, M., Ocelka, T., Jurcikova, J., Halirova, J., Giesy, J.P. & Hilscherova, K. (2014) In situ effects of urban river pollution on the mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* as part of an integrated assessment. *Aquatic Toxicology*, **150**, 83-92.

OpenAI. (2025). ChatGPT (January 25 version) [Large language model]. <https://chatgpt.com/>.

BIJLAGE A – ZOEKSTRATEGIE IN WEB OF SCIENCE

Tabel 7: overzicht van gebruikte zoekzinnen en resultaten in WoS (19/07/2023)

Nr.	Zoekwoorden	Bron	Resultaat (#hits)
6	TI=(sediment OR "pore water" OR benth) Timespan: 2003-06-30 to 2023-06-30	Web of Science Core Collection	77167
7	TI=(toxic OR hazard OR adver OR safet OR growth OR reprod OR bioassay) Timespan: 2013-06-30 to 2023-06-30	Web of Science Core Collection	329498
8	#6 AND #7 Timespan: 2003-06-30 to 2023-06-30	Web of Science Core Collection	816
9	AB=(marin* or "salt water" or ocean or brack* or sea or coast* or costal or beach or radio*) OR TI =(marin* or "salt water" or ocean or brack* or sea or coast* or costal or beach or radio* Or "risk assessment")	Web of Science Core Collection	2762091
11	#8 NOT #9	Web of Science Core Collection	536

BIJLAGE B: FICHES VOOR EEN SELECTIE VAN METHODEN

Tabel 8: chronische test met de vlokreeft, *Hyalella azteca* (F1-HA).

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	(Sub-)chronische test met de vlokreeft, <i>Hyalella azteca</i>	
Taxonomische groep	Kreeftachtigen, amfipode	
Soort	<i>Hyalella azteca</i> , vlokreeft	
Duur	10-14 d (sub-chronisch) of 28 dagen (chronisch) of 42 dagen (chronisch)	
Toxicologische eindpunten	Sterfte en groei op 10-14 d, sterfte-groei & uitkomen nakomelingen op 28 d, en reproductie na 42 dagen. Groeimeting op basis van lengte of drooggewicht.	
Principe	Organismen, 2-9 dagen oud worden blootgesteld in sediment/water compartiment. Significante effecten voor sterfte en groei worden bepaald door vergelijking met een referentiesediment door evaluatie na 10 -14 dagen, 28 dagen of 42 dagen. Overlevende organismen worden geteld door afzeven van het sediment, en de bepaling van groei gebeurt via lengtemeting of bepaling van drooggewicht. Reproductiesucces wordt bepaald nadat volwassen organismen apart op dag 28 in water worden gezet, en het aantal nakomelingen per vrouwtje na 35 en 42 dagen bepaald worden voor elk van de replica-bekers.	
Matrix	Sediment-water fase (water: standaard of natuurlijk)	
Randvoorwaarden matrix	Bruikbaar in brak milieu tot 15 ‰, Criteria voor deeltjesgrootte sediment, ammonium, autochtone biomassa in sediment. Biofysisch-chemische interactie chroom-ammonium, met speciatie/transformatie effect	EPA_2000 Nolte_2021
Ecologische relevantie	Niet inheems	
Relatieve gevoeligheid	Hogere (over-) gevoeligheid qua acute tox voor pyrethoiden t.o.v. Chironomidae, en daarom minder representatief. Vergelijkbaar met Ostracod test (% sterfte) Vergelijkbaar met Europese kreeftachtige soorten (<i>Gammarus sp.</i> , <i>Aselus sp.</i>) voor metaal-gecontamineerde sedimenten	Hall_2014 De Cooman_2015 Zubrod_2019
Reproduceerbaarheid (validatie)	14 d interlab sterfte CV: 2.5-11% & groei CV: 26-35.7% (ISO-Annex G), 10 d sterfte CV: 5.6-33.3% (EPA) 28 d interlab sterfte CV: 5.9-24.1% & groei CV: 27.8-75% (ISO-Annex G), 28 d sterfte CV: 5.9-24.1%, groei-lengte CV: 10.1-36.6% & groei drooggewicht CV: 27.8-75.2%, 42 d groei meer reproduceerbaar dan 42 d reproductie (EPA)	ISO16303_2013; EPA_2000
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	ISO 16303 (14-28 d), EPA100.1 (14 d), EPA100.4 (42 d), Environment Canada (14-42 d), ASTM E1706-04 (14-42 d), Ringtesten voor 14-28 d (ISO), 10-42 d. (EPA), Test acceptatiecriteria gedefinieerd voor de 10 & 28d groei en overleving test, niet voor de reproductie test (tenzij EPA-ervaring uit ringtest).	ISO_2013; EPA_2000, Environment Canada_2017, ASTM_2017
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties van Arche_2023, Belgis_2003, Ingersoll_2015, Brock_2018	
Beschikbaarheid organisme	Organismen te verkrijgen (zie ISO, Annex C), onderhouden van laboweek en synchronisatie van deelpopulatie op leeftijd voor aanvang van een test.	
Kostprijs -uitvoering	Mits opleiding, eenvoudige uitvoering. Tijd qua onderhoud cultuur in labo: verversen & voeding geven, & evaluaties (≠ i.f.v. testduur)	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Geen specifieke infrastructuur, eenvoudige opstelling qua labomateriaal en test uitvoering,	
Andere opmerking	De 10 dagen overleving test (acuut) werd lange tijd in Vlaanderen toegepast als deel van triade onderzoek (zie VMM-handboek). Mail Casado-Martinez Carmen (Oktober 2023) betreffende <i>Hyalella azteca</i> , ISO standard: "we can run it internally with mortality and growth as	

	endpoints, we do not run the reproduction test. We have not run this test for external projects as it still requires some refinement of our protocols".	
--	---	--

Tabel 9: chronische test met de dansmug, *Chironomus sp.* (F2-CR).

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	(Sub-)chronische test met de dansmuggen, <i>Chironomus sp.</i>	
Taxonomische groep	Insecten, diptera	
Soort	<i>Chironomus sp.</i> , dansmuggen. Verschillende soorten worden gebruikt, met kleine verschillen qua levenscyclus, en dus blootstellingstijd. <i>C. riparius</i> is meest gebruikte, hoewel OECD 218 ook <i>C. dilutus</i> en <i>C. yoshimatsui</i> vermeldt. De EPA100.2 richtlijn gebruikt <i>C. tentans</i> . De soorten <i>C. riparius</i> en <i>C. tentans</i> hebben een vergelijkbare lengte qua generatie cyclus van 25-30 dagen.	
Duur	10-28 d (sub-chronisch) of 60-65 d (chronisch, levenscyclus test)	
Toxicologische eindpunten	Sterfte en groei op 10 d, snelheid van ontwikkeling levensstadia, verpoppen en uitvliegen van adulte muggen op 28 d (OECD218, EPA100.2) Levenscyclus test: totaal aantal uitgekomen adulten (voor zowel 1e als 2e generatie), ontwikkelingssnelheid (voor zowel 1e als 2e generatie), geslachtsverhouding van volledig uitgekomen en levende adulten (voor zowel 1e als 2e generatie), aantal ei pakketjes per vrouwtje (alleen 1e generatie) en vruchtbaarheid van de ei pakketjes in enkel 1e generatie (OECD233, EPA100.5).	OECD (2023), OECD (2010), EPA (2000)
Principe	Chironomide larven, in 1 ^{ste} stadium worden blootgesteld, in een gestabiliseerd water/sediment systeem. Aan het einde van de test, na 28 dagen wordt het uitvliegen van adulte muggen, en de ontwikkelingssnelheid gemeten. Eventueel, mits aparte bekken, worden overleving en de groei van de larven ook na 10-14 dagen gemeten. Chironomide larven in 1 ^{ste} larve stadium worden blootgesteld in een sediment-watersysteem. De ontwikkeling, ontpoppen en uitvliegen van de muggen, de tijd tot ze uit het water komen en de geslachtsverhouding van de volledig uitgekomen en levende muggen worden beoordeeld (F1-generatie). Adulten worden overgebracht naar broedkooien om het zwermen, paren en ovipositie te vergemakkelijken. Het aantal geproduceerde eierpakketjes en hun vruchtbaarheid worden beoordeeld. Uit de eierpakketjes worden larven van de 2 ^{de} generatie verkregen. Deze larven worden in verse testbekers gebracht om de effecten op de 2 ^{de} generatie te bepalen door een beoordeling van hun ontpoppen en uitvliegen, het tijdstip tot uitvliegen en de geslachtsverhouding van de volledig uitgekomen en levende muggen (F2-generatie).	
Matrix	Sediment-water fase (water: standaard of natuurlijk)	
Randvoorwaarden matrix	Natuurlijk sediment t.o.v. artificieel sediment kan kritisch zijn in de 28 d test qua uitvlugsucces (< 80% criterium) terwijl ontwikkeling tot stadium 4 en verpoppen succesvol verloopt.	Vangheluwe_2023
Ecologische relevantie	<i>C. riparius</i> is een inheemse soort, meest verspreid in Europa-Azië voornamelijk in stilstaande waters, maar ook in Noord-Amerika. Analooq voor <i>C. tentans</i> maar iets minder voorkomend.	
Relatieve gevoeligheid	Correlatie tussen TE op basis van pyrethroiden in 9 van 15 toxische sediment monsters (gemengde pollutie) en 10 d sterfte <i>C. tentans</i> .	He_2016
Reproduceerbaarheid (validatie)	10 d interlab <i>C. tentans</i> sterfte CV: 5.6–33.3 % en groei CV: 31.1–60.2% (EPA) 20 d interlab <i>C. tentans</i> sterfte CV: 11.5–82.6 % en groei CV: 20.9–66.2% (EPA) 28 d interlab <i>C. tentans</i> ontpoppen van 4 ^{de} stadium larve CV: 29.5–71.2 % (EPA) 28 d interlab <i>C. tentans</i> aantal eitjes/vrouwtje CV: 15.0–52.4 % (EPA) 28 d interlab <i>C. tentans</i> ei-larve ontluiking CV 5.9–49.5% (EPA)	EPA_2000
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	OECD 218 en OECD 233 (methode beschreven voor spiken van sediment), EPA100.2 en EPA100.5 (methode voor natuurlijk sediment, of te spiken sediment)	
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties van Babut_2016, De Baat_2019, De Castro-Catala_2016, Singh_2017 met <i>C. caffrartus</i> , He_2016, Ingersoll_2015 met <i>C. dilutus</i> , Liu_2021, Tuikka_2011, Vangheluwe_2023, Casado-Martinez_2023.	
Beschikbaarheid organisme	Organismen te verkrijgen (bijvoorbeeld Duitsland, info@mesocosm.de), maar laboratorium kweek op te zetten, waarvoor kennis vereist en tijd voor	

	onderhoud/voeding culturen, en synchronisatie van deelpopulatie voor het opstarten van een test.	
Kostprijs - uitvoering	Tijd qua onderhoud cultuur in labo: verversen & voeding geven, & uitvoering van test met frequente evaluaties (≠ i.f.v. testduur), materialen kost is beperkt.	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Opleiding is vereist en correcte uitvoering vereist voldoende ervaring. Specifieke testkamers en broedkamers te maken (bouwschema volgens EPA en OECD annex),	
Andere opmerking	Info Carmen (mail Oktober 2023): C. riparius, AFNOR and OECD 218: performed internally with growth and emergence as endpoints, we do not run the reproduction test.	

Tabel 10: chronische test met de mosselkreeft, *Heterocypris incongruens*. (F3-HI).

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	Sub-chronische test <i>Heterocypris incongruens</i>	
Taxonomische groep	Kreeftachtigen, Ostracod	
Soort	<i>Heterocypris incongruens</i> , mosselkreeft	
Duur	6 d	
Toxicologische eindpunten	Sterfte & groei	<u>Ostracod toxkit F</u>
Principe	Ontluiken van cysten, 52 u voor start van blootstelling. Lengtemeting van neonaten bij begin van de test, 6 dagen blootstelling (donker, 25°C) in multiwell plaat met sediment/water fase in vergelijking met referentiesediment. Sterfte en groei (= lengtemeting als toename) na 6 dagen, mits < 30% sterfte.	
Matrix	Sediment-water fase	
Randvoorwaarden matrix	Tolerant voor hoge chloride en ammonium gehalten (Waara in Buitrago_2013) Kritisch zijn granulometrie met hoge % klei (Palma_2023), en calcite saturatie index (Gu_2020). Een ander referentiesediment van 90% kwartszand en 10% calcite wordt gesuggereerd (voor voldoende groei in controle). Threshold van toxiciteit: 20% door Chial_2002, hoewel 35%, voor variatie door toxische effecten wegens % klei.	Chial and Persoone (2002), Casado-Martinez et al. (2016),
Ecologische relevantie	Inheems	
Relatieve gevoeligheid	Goed vergelijkbaar voor parameter sterfte met <i>Hyalella azteca</i> en <i>Chironomus riparius</i> voor 33 sedimenten (Belgis_2003) Respons sterfte ~ 10 d <i>Hyalella</i> test (De Cooman_2015) Hoogste respons in metaalvervuilde sedimenten, bij vergelijking met Microtox (Buitrago_2013) Respons (sterfte & groei) vergelijkbaar met 10 d sterfte Chironomide (Singh_2017)	
Reproduceerbaarheid (validatie)	CV LC50 sterfte: 30.9% & CV EC50 groei: 18.4% (ISO 14371) CV LC50 sterfte: 12.87% & CV EC50 groei: 5.43 % (ringtest UGent, Janssen & Persoone_2010)	Janssen C.R. (2010)
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	ISO 14371	ISO (2012)
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties van Baran_2015, Belgis_2013, Buitrago_2013, Gu_2020, Palma_2013, Singh_2017, Casado-Martinez_2016 & 2023	
Beschikbaarheid organisme	Organismen en testmaterialen zijn commercieel beschikbaar in de vorm van een test kit	<u>Ostracod toxkit F</u>
Kostprijs - uitvoering	345 €/3-5 testen, Standaardprocedure beschikbaar	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Incubator behoort tot standaard infrastructuur in labo ecotoxicologie	
Andere opmerking	Test wordt routinematige toegepast door VMM bij sediment beoordeling Info Carmen Casado-Martinez (Oktober 2023): H. incongruens test volgens ISO standard: "either externalised to Soluval (Switzerland) or performed internally.	

Tabel 11: chronische test met de borstelworm, *Lumbricus variegatus* (F4-LV)

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	Chronische test met <i>Lumbricus variegatus</i>	
Taxonomische groep	Borstelwormen	
Soort	<i>Lumbricus variegatus</i> , broze slibworm of brokkelworm	
Duur	28 d	
Toxicologische eindpunten	Biomassa (drooggewicht) & reproductie (OECD225) Bioaccumulatie (EPA100.3) – wordt niet verder beschouwd	OECD (2007), EPA (2000)
Principe	Wormen met een natgewicht van 50-100 mg, en gesynchroniseerd (annex in OECD) worden in een sediment/water fase in evenwicht gebracht. Bij laag nutriëntengehalte van het sediment gebeurt een aanrijking met voedsel om groei van controle organismen te garanderen. De reproductie en de biomassa na 28 dagen wordt gemeten, door vergelijking met een controle sediment in voldoende replica condities.	
Matrix	Sediment/water fase	
Randvoorwaarden matrix	Ammonium en zuurstof in bovenstaande water zijn kritische factoren (EPA_2000, Egeler_2005). De wormen zijn tolerant voor verschillende deeltjesgrootte van het sediment, maar gevoelig voor laag organisch koolstof gehalte. Uitputting van organisch materiaal kan interfereren met eindpuntmeting. Threshold voor toxiciteit (reproductie): 25%	Tuikka_2011 Höss_2010
Ecologische relevantie	Inheems, voorkomen in Amerika & Europa, verdragen lage zuurstofgehalten en kunnen hoge dichtheid bereiken in organisch verontreinigde bodems; De worm graaft zich in waardoor blootstellingsroutes zeer divers zijn van rechtstreeks huidcontact met sediment, ingestie van deeltjes, contact poriën water of bovenstaand water. Seksuele voortplanting is zeldzamer, eerder door fragmentatie (nadeel t.o.v. <i>Tubifex</i> sp.).	
Relatieve gevoeligheid	Complementair aan bv. nematode test wegens diversiteit van sediment matrices & verschillende blootstellingsroutes/voedingsgedrag (Tuikka_2011).	
Reproduceerbaarheid (validatie)	28 d interlab met controle en solventcontroles gaf voor totaal aantal wormen CV: 28.1-24.7%, voor reproductie CV: 42.4-36.5%, voor totale biomassa CV: 31.3-26.8% en voor groei CV: 49.4-40.2%.	Egeler P. (2005)
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	OECD225 Ringtest, zie Egeler_2005	
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties van Egeler_2005, Tuikka_2011, Wolfram_2012, Feiler_2013	
Beschikbaarheid organisme	Organismen te verkrijgen (bijvoorbeeld Duitsland, info@mesocosm.de), maar laboratorium kweek op te zetten, waarvoor kennis vereist en tijd voor onderhoud/voeding culturen, en synchronisatie van deelpopulatie voor het opstarten van een test.	
Kostprijs - uitvoering	Tijd qua onderhoud cultuur in labo is beperkt. Tijd bij uitvoering van test: opstart van test, en enkel evaluaties op dag 28, geen kost voor specifieke materialen.	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Geen specifieke infrastructuur vereist, tenzij gethermostatiseerde ruimte (standaard in ecotoxicologisch labo)	
Andere opmerking		

Tabel 12: chronische test met de rondworm, *Caenorhabditis elegans* (F5-CE).

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	Chronische test met <i>Caenorhabditis elegans</i>	
Taxonomische groep	Nematode	
Soort	<i>Caenorhabditis elegans</i> , rondworm	
Duur	4 d (~ levenscyclus)	
Toxicologische eindpunten	Groei (lengtemeting), en reproductie (# nakomelingen)	
Principe	Vanuit een precultuur worden juveniele <i>C. elegans</i> blootgesteld, mits bepaling van lengte bij aanvang test. De wormen worden 4 dagen blootgesteld waarna ze via Ludox-scheiding uit het sediment gehaald worden om adulten en nakomelingen te tellen, en de lengte te meten. Reproductiesucces en groei worden berekenen, en door vergelijking met het referentiesediment (controle) worden effecten gekwantificeerd.	
Matrix	Sediment/waterfase	
Randvoorwaarden matrix	Sedimenten > 5% klei: effect op groei & reproductie, watergehalte bijstellen (ISO), Variabiliteit op effect parameters door geochemie van sediment: grote partikels (>400µm) met negatief effect op groei, Toxiciteit threshold: 25% (inhibitie groei) en 50% voor reproductie effecten in vergelijking met controle condities	ISO (2021) Tuikka_2011, Hoss_2010
Ecologische relevantie	Inheems. Algemeen voorkomen, leeft van detritus, rottend materiaal	
Relatieve gevoeligheid	Toxische effecten gerelateerd aan metaal & PCB contaminatie, <i>C. elegans</i> is meest responsief in batterij t.o.v. Lumbricus, zebraisembryo, Arthrobacter,	Schertzinger_2019
Reproduceerbaarheid (validatie)	CV: 27.4 % groei en 28.8 % reproductie (ringtest 2009, ISO -annex D). CV: 11.1 groei en 10.5% reproductie (Hoss_2012)	
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	ISO 10872, Validatie voor sediment en ringtest (Hoss_201& 2012)	
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties van Tuikka_2011; Hoss_2010 & 2012 (ref.sediment), Schertzinger 2019, Feiler_2013, Casado-Martinez_2023	
Beschikbaarheid organisme	Stock op agar platen (2 maanden houdbaar), algemeen beschikbaar R&D labs.	
Kostprijs - uitvoering	Eenvoudige werkwijze, mits beperkte opleiding	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Microscop voor lengtemetingen (eventueel software beeldanalyse)	
Andere opmerking	Test wordt routinematig (service) uitgevoerd bij Ecosa (Duitsland), contact: Dr. Sebastian Höss	

Tabel 13: chronische test met een hogere waterplant, *Myriophyllum* sp. (F6-MA).

Parameter/ criterium	Beschrijving	Bron
Naam	Subchronische groeitest <i>Myriophyllum</i> sp.	
Taxonomische groep	Macrofyten, hogere waterplant met wortel	
Soort	<i>Myriophyllum aquaticum</i> , of parelvederkruid (ISO16191), <i>Myriophyllum spicatum</i> , of aarvederkruid (OECD239)	ISO (2013a), OECD (2014)
Duur	<i>M. aquaticum</i> : totaal 10 dagen, waarvan 3 dagen wortelen gevolgd door 7 dagen blootstelling <i>M. spicatum</i> : totaal 21 dagen, waarvan 7 dagen wortelen gevolgd door 14 dagen blootstelling	
Toxicologische eindpunten	Effecten op groei, te meten via bepaling van scheutlengte, lengte zijscheuten en totaal aantal, alsook biomassa na bepalen van nat en drooggewicht.	
Principe	De planten <i>M. aquaticum</i> worden gedurende een periode van 10 dagen blootgesteld aan testmonsters. De groei van de plant in replica's van een testmonster wordt vergeleken met de groei in het controlemonster. Fytotoxische effecten worden gekwantificeerd als groeiremming (%) ten opzichte van de controlegroei.	
Matrix	Sediment/water fase	
Randvoorwaarden matrix	Anoxische sedimenten geven interferentie met groei (<i>M. spicatum</i>); Hoge ammonium en nutriënten gehalten geven een groeiremming en verzwakte planten (<i>M. spicatum</i>); Groei van planten is omgekeerd evenredig met het % organisch materiaal terwijl waterdiepte geen effect heeft (<i>M. spicatum</i>),	Atapaththu <i>et al.</i> (2018), Zhu <i>et al.</i> (2014), He <i>et al.</i> (2021)
Ecologische relevantie	<i>M. aquaticum</i> : Uitheems, invasieve soort (strikte voorzorgen te nemen tegen verspreiding naar het milieu) <i>M. spicatum</i> : Inheems in Eurazië, de grote modderkruiper paait tussen deze waterplanten.	
Relatieve gevoeligheid	Zie 2 publicaties in tabel 14: gemiddelde score qua gevoeligheid (5 sed./21) in vgl. broze slibworm en rondworm (Feiler_2013), gemiddelde score qua gevoeligheid (2 sed./9) in vergelijking met test op eendenkroos (Stesevic_2007)	
Reproduceerbaarheid (validatie)	<i>M. aquaticum</i> interlab CV-groeisnelheid: 20.6-25% en CV-inhibitie: 26.6-39.9% (Feiler_2014). Een bijkomend test acceptatiecriterium van groei CV <15% in de controles werd aanbevolen door Feiler_2014. Vergelijkende testen met beide soorten en aanbevelingen voor te verbeteren technische aspecten en standaardisatie (Ratte_2012): <i>M. aquaticum</i> : CV alle groeiparameters: 35.2-62.4 % <i>M. spicatum</i> : CV alle groeiparameters: 21.2-57.9 %	Feiler <i>et al.</i> (2014) Ratte (2012)
Standaardisatie, richtlijn of ringtest	Groei criterium in controle (CV < 15%) – Feiler_2013	
Toepassing sediment beoordeling	Zie publicaties: Feiler_2013 (<i>M. aquaticum</i>), Stecevic_2007, in Tabel 14	
Beschikbaarheid organisme	Planten te verkrijgen (bijvoorbeeld Duitsland, info@mesocosm.de), maar laboratorium kweek op te zetten, waarvoor kennis vereist en tijd voor onderhoud, met synchroniseren van cultuur voor opstart van test	
Kostprijs - uitvoering	Geen gegevens beschikbaar	
Implementatie (infrastructuur / opleiding)	Standaard materiaal, beschikbaar in ecotoxicologisch labo (incubator, temperatuur & licht controle)	
Andere opmerking	Mail Casado-Martinez Carmen (Oktober 2023) betreffende de test volgens ISO standard: "we were running it in the past but now the test is disrupted due to too much effort to maintain the culture and still confounding factors for the interpretation of results".	

BIJLAGE C: TOEPASSING VAN METHODEN VOOR BEOORDELING VAN SEDIMENT

Tabel 14: vergelijking van organismen en eindpunten per testmethode in sediment contact testen (SCT), zie ook methode fiches in bijlage B.

		Organisme	Vlokkreeft			Dansmug			Mos- sel- kreeft	Broze slib- worm	Rond- worm	Parel- veder- kruid	Ander SCT	
			Duur	10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d	60-65 d	6 d	28 d	4 d	14 d	
		Eindpunt	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ ontluiken	Reproductie	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ uitvliegen	Levenscyclus	Sterfte/groei	Biomassa/ reproductie	Groei/ reproductie	Groei		
Referentie	Studie	Aard pollutie												Besluit effecten/gevoeligheid
Babut_2016	Getrapte evaluatie ecotox sediment: (1) screening (2) detail	17 sites, divers (project Diese)					(2)X		(1)X				(1)X ⁹ , (2)X ¹⁰	Gevoeligheid varieert in functie van type pollutie, daarom testbatterij nodig (geen detail data)
Baran_2015	Toxiciteit/mobiliteit van metalen, sediment, eluaat en poriënwater testen	3 sites, metalen							X				X ¹¹	Toxiciteit in sediment > poriënwater; Microtox & Phytotox gevoeliger dan Mosselkreeft test
Buitrago_2013	Toxiciteit totaal sediment, in vgl. poriënwater test en genotox + DR-Calux op extracten	8 samples, moeras nabij stortplaats, diverse pollutie (dioxine achtig)							X				X ¹²	Groei meer gevoelig eindpunt dan sterfte bij Mosselkreeft test; Mosselkreeft is gevoeliger dan Microtox test
De Castro-Catala_2016	Risico-evaluatie triade (chemie, tox, ecologie): sediment & poriënwater	4 rivieren, 17 sample sites, organofosfaat en metaalvervuiling					X ¹³						X ¹⁴	Hoogst toxische stalen (3): bioassay effecten ~TE, als maat van pollutie; sediment testen meer gevoelig dan poriënwater testen; geen systematisch patroon voor meest gevoelig organisme of eindpunt – duidt op complementaire info uit meer testen voor diverse pollutie

⁹ Microtox, 30', & Luminotox (alg fotosynthese)

¹⁰ Gammarus, 28 d reprod. & Potamopyrgus, reprod.

¹¹ Phytotox kit & Microtox

¹² Microtox

¹³ Eindpunten: overleving (> 30%), lengte hoofdkapsel en biomassa

¹⁴ Microtox, sediment contact versus poriënwater test (ook alg, watervlo)

		Organisme	Vlokkreeft			Dansmug			Mos- sel- kreeft	Broze slib- worm	Rond- worm	Parel- veder- kruid	Ander SCT	
			10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d	60-65 d						
		Duur												
		Eindpunt	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ ontluiken	Reproductie	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ uitvliegen	Levenscyclus	Sterfte/groei	Biomassa/ reproductie	Groei/ reproductie	Groei		
Referentie	Studie	Aard pollutie												Besluit effecten/gevoeligheid
Ingersoll_2015	Studie onderlinge gevoeligheid vlokkreeft, dansmug en 2-kleppige, voor diluties van sediment	Composiet sediment monster (6 sites), met gemengde pollutie (PCB, PAK, Metalen), en verdunning hiervan met hetzij controle zand, of met controle sediment	X	X			X ¹⁵						X ¹⁶	Relatieve soortgevoeligheid afhankelijk van eindpunt, en type dilutie (zand/sediment); biomassa gevoeliger dan sterfte; Dansmug (<i>C. dilutus</i>): 1 u larve gevoeliger dan 7d larve, eindpunten biomassa & ontluiken vglbaar; Vlokkreeft: alle eindpunten 28 d gevoeliger dan 10 d blootstelling
Palma_2023	Chemische & toxicologische karakterisatie via sediment en poriënwater	Metaalpollutie: 8 sites, 12 seizoenale monsternames/site in 2017-2018.						X					/ ¹⁷	Enkel mosselkreeft: sediment test, subletale effecten in relatie tot graad van pollutie
Schertzinger_2019	Sediment toxiciteit door RWZI-lozing, effecten in functie van afstand, rol van retentie van partikels (polluent adsorptie) door RWZI	Diverse pollutie met metalen, PCB's, 3 sampling sites met referentiepunt, en 6-8 punten i.f.v. afstand tot lozing									X		X ¹⁸	Rondworm: correlatie effect (inhibitie reprod.) metaal- & PCB-pollutie; i.f.v. afstand tot lozing; Zebravis embryo: interferentie door O2 tekort op sterfte, effect niet te onderscheiden van pollutent effecten.

¹⁵ Met 1 u oude larven (*C. dilutus*): 20 d. blootstelling (overleving, dw, biomassa) of 48 d (uitvliegen), of met 7 d oude larven: 13 d blootstelling (overleving, dw, biomassa) of 48 d (uitvliegen).

¹⁶ *Lampsilis siliquoidea* (2-kleppige), 28 d: gewicht & biomassa

¹⁷ Andere testen: uitsluitend op poriënwater met Microtox (*Vibrio fischeri*), alg (*Pseudokirchneriella subcapitata*) en kieuwpootkreeftje (*Thamnocephalus platyurus*)

¹⁸ Zebravis embryo test (SCT), blootstelling tot 196 u (8 d) met eindpunten sterfte, en ontwikkelingsparameters (somieten, oog, hart, bloedcirculatie, pigmentatie...), volgens Hollert_2003.

		Organisme	Vlokkreeft			Dansmug			Mos-sel-kreeft	Broze slijb-worm	Rond-worm	Parel-veder-kruid	Ander SCT	
			Duur	10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d						
		Duur	10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d	60-65 d	6 d	28 d	4 d	14 d		
		Eindpunt	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ontluiken	Reproductie	Sterfte/groei	Sterfte/groei/uitvliegen	Levenscyclus	Sterfte/groei	Biomassa/reproductie	Groei/reproductie	Groeisnelheid		
Referentie	Studie	Aard pollutie												Besluit effecten/gevoeligheid
Singh_2017	Beoordeling van sediment via acute & chronische effecten	Metaalvervuild riviersediment (zure uitstroom mijnsites), 7 sampling sites op verschillende afstand van de mijn (site 7= ref)				X ¹⁹			X				X ²⁰	Ostracod: sterfte en groei vglbaar met Phytotoxkit dichtbij de mijn (biobeschikb. - hoge conc.), groeistimulatie plant interferentie tox. (hoge nutriënt conc.); Ostracod toxiciteit relatie met partikel conc. (metaal binding). Dansmug: vglbare trend i.f.v afstand, sterfte minder gevoelig dan andere 2 soorten, effecten groei dichtbij de mijn.
Feiler_2013	Duitse aanpak: beoordeling via 5 SCT voor #trofische niveaus & blootstellingsweg, toxiciteitsklassen i.f.v respons alle testen	Variëteit van 21 sediment stalen, verschillende geo-chemische eigenschappen en antropogene pollutie								X	X	X	X ²¹	Hoogste tox: rondworm & zebraavis; # tox sedimenten: rondworm groei (8) & reprod. (7), zebravissterfte (6), plant (5), borstelworm (1) & bacterie (2); TE organische stoffen: gerelateerd aan respons batterij organismen (metalen: geen significante relatie); Effecten rond- & borstelwormen relatie met organische pollutie, plant & zebravisembryo relatie metaal pollutie; Batterij van testen voor complexe poll.
Lécrivain_2019	Effecten en bioaccumulatie pelagische en bentische soorten na 10 d in weinig gecontamineerd sediment van meer	Metaal contaminatie, 6 sedimenten en artificiële controle				X							X ²²	Effecten verschillend voor organismen, niet steeds in relatie tot BCF. Dansmug: overleving en groeisnelheid significant negatief verband met Cd, Cr en Ni conc in sediment; Watervlo: enkel relatie groeisnelheid inhibitie en Cd, Ni & Pb conc. in sed., Eendenkroos: geen duidelijke effecten i.f.v pollutie, soms indicatie hormesis.

¹⁹ Dansmug, maar Zuid-Afrikaanse soort *Chironomus caffrarius*

²⁰ Phytotox kit (3d)

²¹ Zebravisembryo test volgens Hollert_2003 & Arthrobacter test (enzyme activiteit)

²² Watervlo (*Daphnia magna*) en eendenkroos (*Lemna minor*) in waterfase van microkosmos opstelling (dus niet echt SCT), naast dansmug

		Duur	10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d	60-65 d	6 d	28 d	4 d	14 d		
		Eindpunt	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ ontluiken	Reproductie	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ uitvliegen	Levenscyclus	Sterfte/groei	Biomassa/ reproductie	Groei/ reproductie	Groei		
Referentie	Studie	Aard pollutie												Besluit effecten/gevoeligheid
Zhang_2020	Effecten van metalen op 2 organismen, toetsing criteria sediment kwaliteit via risk index	Metalen Cu, Cd, Zn & Pb, testen met gespiked sediment, en 10 sites				X ²³							X ²⁴	Dansmug: meer gevoelig dan borstelworm, vnl Cd, Zn & Pb 5-10x lager LC50 & EC50 Kiezelwier: interessante test?
Stecevic_2007	Vergelijking van nieuwe SCT met M. aquaticum, in vgl. met L. minor test op poriën water (centrifug.) in Z-O Europa	9 sites (incl. ref.) in meren, diverse pollutie industriële & gemeent. lozingen, lek olieproducten, runn off pesticiden.										X	X ²⁵	Parelvederkruid: 2 sites sign. Inhibitie groei, hoewel ook op ref site t.o.v. controle sediment, correlatie met chroomgehalte, respons op sites verschillend van eendenkroos. Verschillen duidt op complementariteit, rol van fys-chem & biobeschikbaarheid/stof.
Roig_2015	Beoordeling sediment & poriënwater, in relatie tot chemie en ecologische impact	13 sites op Elbro rivier (Spanje) met industr., agrarische impact en RWZI-lozingen, en ref. op zijrivier				X ²⁶							X ^{27, 28}	SCT geven diverse respons (i.f.v. specifieke metalen), met dansmug meest gevoelig en watervlo minst gevoelig. Alg N. palea meest gevoelig voor Cu, EC50 correleert negatief met totaal C. Algen toxiciteit (N. palea & P. subcapitata) correleert met AVS. Poriewatertesten (4) onderling goed vglbaar, onderscheiden meest vervuilde locatie met slechtste ecolog. status, maar minder gevoelige respons dan SCT; Randvoorwaarden effect: correlatie AVS (sulfiden) met algen en Microtox, en relatie ammon; - tox voor watervlo en dansmug.

²³ *C riparius* (dansmug): larven sterfte en groei, na 14 d.

²⁴ *Limnodrilus hoffmeisteri* (borstelworm), sterfte en autotomie snelheid na 21 d

²⁵ *Lemna minor* (eendenkroos) op poriënwater, 7d. met meting groei-inhibitie, en chlorofylgehalte

²⁶ *C riparius* (dansmug): enkel sterfte eindpunt (ASTM E1706-05).

²⁷ Benthische alg, kiezelwier *Nitzschia palea*, als SCT

²⁸ Andere SCT: vaste fase Microtox test en *Daphnia magna*, (poriënwater na filtratie: Microtox, alg *Pseudokirchneriella subcapitata* en watervlo *Daphnia magna*)

		Organisme	Vlokkreeft			Dansmug			Mos- sel- kreeft	Broze slib- worm	Rond- worm	Parel- veder- kruid	Ander SCT	
			Duur	10-14 d	28 d	42 d	10 d	28 d						
		Eindpunt	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ ontluiken	Reproductie	Sterfte/groei	Sterfte/groei/ uitvliegen	Levenscyclus	Sterfte/groei	Biomassa/ reproductie	Groei/ reproductie	Groei		
Referentie	Studie	Aard pollutie												Besluit effecten/gevoeligheid
Tuikka_2011 & Wolfram_2012	Batterij 6 SCT, 3 trofische niveaus, met diverse eindpunten in vgl met TU op basis van acute tox (watervlo, vis), en MsPAF voor te verwachten populatie effecten	4 gepollueerde sedimenten (organisch/anorganisch), en referenties van 3 Europese stroomgebieden; versus artificieel controle sediment. Sedimenten variëren sterk qua partikel grootte en OC-gehalte				X				X	X		X ²⁹	Verschillen in gevoeligheid tussen soorten, = aanwijzing voor nood aan batterij van testen met verschillende organismen, met diverse respons per sediment. (complementair en gevoelig: L. variegatus, C. riparius, C. elegans en V. fischeri). D. rerio minst effect, en P. antipodarum indicatie endocrien effect in 1 sediment. C. elegans: significante effecten in alle stalen, met 3 op 7 boven threshold (25% groei inhibitie), en 3 significante reproductie, waarvan 2 boven threshold (50%). C. riparius: overleving acceptabel (>70%), hogere biomassa en hoger larvale stadium in enkele gepollueerde sedimenten, in vgl. controle. L. variegatus: 2 gepollueerde sites met lagere aantallen en biomassa t.o.v. ref sites MsPAF en TU-predicties bevestigen gemeten effecten, met hoger risico voor gepollueerde sedimenten versus referentie sedimenten, en eenzelfde ranking voor meest toxische sedimenten.
Casado-Martinez_2023	Beoordeling van 3 species, indeling in tox klassen en vgl met chemie	Studies van 13 sites, diverse pollutie					X		X		X			Respons mosselkreeft groei > overleving > Dansmug uitvliegen > geen effect bij rondworm; Discrepantie tussen pollutiegehaltes en toxische effecten
15 publicaties, met toepassing 25 testen van methode fiches		Aantal hits/test	1	1	0	5	4	0	6	2	4	2	n.v.t.	Beperkt tot geen systematische verschillen in gevoeligheid, eerder complementariteit binnen batterij!
		% toepassing test	4	4	0	25	16	0	24	8	16	8		

²⁹ Andere SCT: chronische test (56 dagen: reproductie succes en grootte) met modderslak, *Potamopyrgus antipodarum*, vroege ontwikkeling zebravis embryo, *Danio rerio* (48u, eindpunten embryo ontwikkeling), en acute test *Vibrio fischeri* (kinetic Flash method)