

NORME  
INTERNATIONALE

ISO  
10253

Première édition  
1995-10-01

---

---

**Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la  
croissance des algues marines avec  
*Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum  
tricornutum***

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

*Water quality — Marine algal growth inhibition test with Skeletonema  
costatum and Phaeodactylum tricornutum*

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fb051caa-f734-43e7-a4ff-  
de7631260402/iso-10253-1995](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fb051caa-f734-43e7-a4ff-de7631260402/iso-10253-1995)



Numéro de référence  
ISO 10253:1995(F)

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 10253 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

ITEH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
ISO 10253:1995  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fb051caa-f734-43e7-a4ff-de7631260402/iso-10253-1995>

© ISO 1995

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation  
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

# Qualité de l'eau — Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum*

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode pour la détermination des effets toxiques de substances chimiques sur la croissance d'algues marines.

La méthode est applicable à des substances facilement solubles dans l'eau qui ne sont pas significativement dégradées ou éliminées au cours de l'essai.

NOTE 1 Avec quelques modifications mineures, elle est également applicable à la détermination de l'effet inhibiteur des effluents. Voir cependant la note du tableau 2.

## 2 Principe

Plusieurs générations de cellules algales appartenant à la même espèce sont cultivées dans un milieu défini contenant une série de concentrations de la substance à expérimenter, préparée en mélangeant des quantités appropriées de concentrés nutritifs, d'eau de mer, de solutions mères de substance à expérimenter et un inoculum de cellules algales en phase exponentielle de croissance. Les solutions d'essai sont incubées pendant une période minimale de 72 h, pendant laquelle la concentration cellulaire de chacune d'entre elles est mesurée au moins toutes les 24 h. L'inhibition est mesurée comme étant la diminution de la croissance ou du taux de croissance par rapport aux cultures témoins réalisées dans des conditions identiques.

## 3 Définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les définitions suivantes s'appliquent.

**3.1 concentration cellulaire:** Nombre de cellules par unité de volume.

**3.2 croissance:** Augmentation de la concentration cellulaire.

**3.3 taux de croissance:** Expression du taux d'augmentation de la concentration cellulaire dans le temps.

Voir 8.2.2.

**3.4 solution d'essai:** Mélange d'eau de mer, de substances nutritives et de substance à expérimenter, dans lequel les cellules algales sont incubées.

**3.5 solution témoin:** Mélange d'eau de mer, de substances nutritives et de cellules algales, sans substance à expérimenter.

**3.6 concentration efficace, CE10 ou CE50:** Concentration de la substance à expérimenter qui entraîne une diminution de respectivement 10 % ou 50 % de la croissance ou du taux de croissance par rapport aux solutions témoins.

**3.7 concentration sans effet observé, CSEO:** Concentration la plus élevée de la substance à expérimenter pour laquelle il n'y a aucune diminution statistiquement significative de la croissance ou du taux de croissance par rapport aux solutions témoins.

## 4 Réactifs

### 4.1 Organismes d'essai

Utiliser comme algue marine, soit

- Skeletonema costatum* (Greville) Cleve (CCAP 1077/1C, NIVA BAC 1, ISTPM P4 — Bouin);

soit

- b) *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (CCAP 1052/1A — Oban, 1090/1A Göttingen, NIVA BAC 2, ISTPM P1).

Ces algues sont des espèces phytoplanctoniques courantes (phylum *Bacillariophyta*) et largement présentes dans les eaux estuariennes et côtières.

On peut se procurer les souches recommandées sous forme de cultures monospécifiques et non axéniques auprès de:

NIVA: Norwegian Institute for Water Research  
P.O. Box 173 Kjelsås  
N-0411 Oslo  
Norvège

ISTPM P1  
ISTPM P4 —

Bouin: INERIS  
9, rue de Rocroy  
75010 Paris  
France

CCAP: Dunstaffnage Marine Laboratory  
P.O. Box 3 Oban  
Argyll PA34 4AD  
Royaume-Uni

Göttingen: Collection of Algal Cultures  
Institute of Plant Physiology  
University of Göttingen  
Nikolausberger Weg 18  
D-3400 Göttingen  
Allemagne

NOTE 2 Les cultures mères peuvent être maintenues dans le milieu (voir 4.3 et 6.1). Un repiquage régulier est nécessaire. Des intervalles d'une semaine peuvent être nécessaires pour *Skeletonema*; des intervalles de deux ou de trois semaines peuvent être suffisants pour *Phaeodactylum*.

## 4.2 Eau

L'eau utilisée pour la préparation de l'eau de mer synthétique, du milieu nutritif et des solutions de substance à expérimenter, doit être déionisée ou d'une qualité équivalente. Veiller à éviter toute contamination de l'eau par des substances inorganiques ou organiques pendant la préparation et le stockage. Aucun matériel en cuivre ne doit être utilisé.

## 4.3 Eau de mer

Pour la culture et l'essai relatif à *Phaeodactylum*, le milieu de culture (6.1) est préparé à partir d'ajout de

substances nutritives à de l'eau de mer naturelle ou synthétique. Pour *Skeletonema*, l'utilisation d'eau de mer naturelle est nécessaire pour le maintien à long terme des cultures et peut également être nécessaire pour le milieu d'essai, car un milieu d'eau de mer synthétique ne permet pas toujours une croissance suffisante pour satisfaire les critères de qualité de l'essai. Si de l'eau de mer naturelle [de salinité égale à 30 ‰ (m/m) ± 5 ‰ (m/m)] est utilisée, veiller à ce qu'elle ne soit pas polluée.

Préparer l'eau de mer synthétique selon la composition indiquée dans le tableau 1.

Toutes les substances chimiques utilisées doivent être de qualité analytique.

Tableau 1 — Eau de mer synthétique

Sel	Concentration de sel dans l'eau de mer synthétique g/l
NaCl	22
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	9,7
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (anhydre)	3,7
CaCl <sub>2</sub> (anhydre)	1,0
KCl	0,65
NaHCO <sub>3</sub>	0,20
Sels de H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,023

Stériliser l'eau de mer par filtration sur membrane (5.4).

## 4.4 Substances nutritives

Préparer trois solutions mères de substances nutritives dans l'eau, selon les compositions indiquées dans le tableau 2.

NOTE 3 Ces solutions mères seront éventuellement diluées (voir 6.1) pour obtenir les concentrations finales en substances nutritives des solutions d'essai.

Toutes les substances chimiques utilisées doivent être de qualité analytique.

Stériliser les solutions mères 1 et 3 en autoclave à 120 °C pendant au moins 15 min, et la solution mère 2 par filtration sur membrane (5.4).

Conserver les solutions dans l'obscurité à 4 °C.

**Tableau 2 — Solutions mères de substances nutritives**

Substance nutritive	Concentration dans la solution mère	Concentration finale de la solution d'essai
<b>Solution mère 1</b>		
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	48 mg/l	149 µg/l (Fe)
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	144 mg/l	605 µg/l (Mn)
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	45 mg/l	150 µg/l (Zn)
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,157 mg/l	0,6 µg/l (Cu)
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,404 mg/l	1,5 µg/l (Co)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1 140 mg/l	17,1 µg/l
Na <sub>2</sub> EDTA 1)	1 000 mg/l	15,0 µg/l
<b>Solution mère 2</b>		
Hydrochlorure de thiamine	50 mg/l	25 µg/l
Biotine	0,01 mg/l	0,005 µg/l
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,10 mg/l	0,05 µg/l
<b>Solution mère 3</b>		
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	3,0 g/l	3,0 mg/l
NaNO <sub>3</sub>	50,0 g/l	50,0 mg/l
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O	14,9 g/l	14,9 mg/l
1) La formation de complexes à partir des métaux lourds, due à la présence dans le milieu nutritif d'EDTA à concentration relativement élevée, peut rendre l'essai inapplicable aux effluents contenant des métaux lourds.		

## 5 Appareillage

Tout matériel en contact avec le milieu d'essai doit être en verre ou en matériau chimiquement inerte.

Appareillage courant de laboratoire, et

**5.1 Armoire ou pièce à température contrôlée,** pourvue d'une lampe fluorescente blanche assurant un éclairage continu convenant pour satisfaire aux prescriptions sur les conditions d'éclairage spécifiées en 6.6.

**5.2 Appareil permettant de mesurer la concentration cellulaire algale,** de préférence un compte-particules ou un microscope à chambre de comptage. L'état de la croissance des cultures d'algues peut également être déterminé par une méthode indirecte à l'aide d'un spectromètre, d'un turbidimètre ou d'un fluorimètre de sensibilité suffisante et s'il est établi une corrélation acceptable avec la concentration cellulaire. L'appareil utilisé doit permettre de mesurer avec précision des concentrations cellulaires aussi faibles que 10<sup>4</sup> cellules par millilitre et de distinguer la croissance algale des effets perturbateurs, par

exemple la présence de matières particulaires et la couleur de l'échantillon.

**5.3 Flacons de culture,** par exemple fioles coniques de 250 ml avec bouchons perméables à l'air.

**5.4 Appareillage pour filtration sur membrane,** utilisant des filtres de 0,2 µm de diamètre moyen de pore.

**5.5 Autoclave.**

**5.6 pH-mètre.**

## 6 Mode opératoire

### 6.1 Préparation du milieu de culture

Ajouter 15 ml de solution mère 1, 0,5 ml de solution mère 2 et 1 ml de solution mère 3 (voir tableau 2) à environ 900 ml d'eau de mer naturelle ou synthétique (4.3) et compléter à 1 litre avec cette même eau de mer.

Ajuster le pH à 8,0 ± 0,2 en ajoutant une solution diluée d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium.

### 6.2 Préparation de l'inoculum

L'inoculum d'algues utilisé pour l'essai doit être prélevé sur une préculture en phase de croissance exponentielle. La préculture doit être préparée 3 d ± 1 d avant le début de l'essai, comme suit.

Ajouter au milieu de culture (6.1) une quantité suffisante de cellules provenant de la culture algale mère, de façon à obtenir une concentration cellulaire initiale d'environ 2 × 10<sup>3</sup> à 10<sup>4</sup> cellules par millilitre. Maintenir la préculture dans les mêmes conditions que celles de l'essai (voir 6.6) pendant 3 d ± 1 d. Après ce délai, la préculture est normalement en phase de croissance exponentielle et possède une concentration cellulaire suffisante pour pouvoir être utilisée comme inoculum. Mesurer la concentration cellulaire de la préculture immédiatement avant l'essai (voir 6.7), afin de calculer le volume d'inoculum nécessaire.

### 6.3 Choix des concentrations d'essai

Les concentrations de la substance à expérimenter doivent normalement suivre une progression géométrique, par exemple 10 mg/l; 3,2 mg/l; 1,0 mg/l; 0,32 mg/l; ...; 0,01 mg/l.

Si possible, les concentrations doivent être choisies de façon à obtenir plusieurs (c'est-à-dire 4 ou 5) ni-

veaux d'inhibition de croissance allant de moins de 10 % à plus de 90 %.

NOTE 4 La gamme de concentrations acceptables est déterminée en réalisant un essai préliminaire de «recherche de la gamme» couvrant plusieurs ordres de grandeur de différence entre les concentrations d'essai. Lors de cet essai préliminaire, il n'est pas nécessaire de procéder à une répétition pour chaque concentration d'essai.

#### 6.4 Préparation des solutions mères de substance à expérimenter

Si nécessaire, préparer des solutions mères de substance à expérimenter dans le milieu de croissance algale par dilution. La concentration de la substance à expérimenter dans les solutions mères doit être telle qu'après ajout dans les récipients d'essai contenant le milieu de croissanceensemencé avec les algues, on obtienne la gamme de concentrations requise pour l'essai.

L'essai doit normalement être effectué sans ajustement du pH. Toutefois, certaines substances peuvent avoir un effet toxique dû à leur forte acidité ou alcalinité. Pour évaluer la toxicité d'une substance indépendamment du pH, ajuster le pH de la solution mère initiale (avant la dilution en série) à celle du milieu de culture, en utilisant des solutions à 1 mol/l d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium.

#### 6.5 Préparation des solutions d'essai

Préparer les solutions d'essai en mélangeant les volumes appropriés de solution mère de substance à expérimenter (6.4), de milieu de culture (6.1) et d'inoculum (6.2) dans les flacons de culture. Le volume total doit être le même dans tous les flacons.

La quantité d'inoculum ajoutée à chaque flacon doit être suffisante pour que la concentration cellulaire initiale des solutions d'essai soit de  $10^4$  cellules par millilitre.

Une concentration cellulaire initiale plus faible (de 3 à 5 fois plus faible) est recommandée pour *Skeletonema* en raison de son volume cellulaire élevé. Les chaînes cellulaires formant *Skeletonema* doivent être prises en compte lors de la détermination de la concentration cellulaire initiale.

Préparer trois répétitions pour chaque concentration de la substance à expérimenter. Préparer également six flacons ne contenant que le milieu de culture et l'inoculum, sans substance à expérimenter. Ces flacons servent de témoins.

Préparer une série séparée de concentrations de la substance à expérimenter, sans algues, pour servir de blancs pour les déterminations de concentration cellulaire.

Il est admis, si cela est justifié par des considérations techniques, de modifier le plan d'essai en augmentant le nombre de concentrations et en réduisant le nombre de répétitions pour chaque concentration.

Mesurer le pH des échantillons pour chaque concentration des solutions d'essai et des solutions témoins.

#### 6.6 Incubation

Incuber les flacons de culture bouchés à 20 °C, sous lumière blanche continue. La température ne doit pas varier de plus de 2 °C durant l'essai. L'intensité lumineuse au niveau moyen des solutions d'essai, mesurée à l'aide d'un récepteur approprié dans le domaine de longueur d'onde effective de la photosynthèse allant de 400 nm à 700 nm, doit être uniforme et comprise dans l'intervalle de  $60 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  à  $120 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  [soit de  $35 \times 10^{18}$  photons/ $(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  à  $70 \times 10^{18}$  photons/ $(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ].

Il est important de noter que la méthode de mesure, en particulier le type de récepteur (collecteur), influe sur la valeur mesurée. Les récepteurs sphériques (lesquels répondent à la lumière incidente et réfléchie sous tous les angles au-dessus et au-dessous du plan de mesure) et les récepteurs «hémisphériques» (lesquels répondent à la lumière sous tous les angles au-dessus du plan de mesure) sont préférables aux récepteurs unidirectionnels et donnent des valeurs plus élevées pour une source lumineuse non ponctuelle du type de celle décrite à la note 5.

#### NOTES

5 L'intensité spécifiée dans ce paragraphe peut être obtenue à l'aide de lampes fluorescentes de 4 W à 7,30 W du type lumière blanche universelle (naturelle) [par exemple, un étalon de couleur 2 spécifié (d'une température de couleur 4 300 K) conformément à la CEI 81<sup>[1]</sup>], à une distance d'environ 0,35 m du milieu de culture algale.

6 Pour les instruments de mesure de la lumière étalonnés en lux, un intervalle équivalent de 6 000 lx à 10 000 lx est acceptable pour l'essai.

Maintenir les cellules algales en suspension en les secouant, en les agitant ou en les aérant afin d'améliorer les échanges gazeux et de réduire la variation du pH dans les solutions d'essai.

## 6.7 Mesurages

Mesurer la concentration cellulaire dans chaque flacon de culture (y compris les témoins) au moins toutes les 24 h. Ces mesurages sont habituellement effectués sur de petits volumes (par exemple 5 ml), prélevés de la solution d'essai et non réintroduits.

L'essai doit durer au moins 72 h. À la fin de l'essai, mesurer le pH des échantillons pour chaque concentration des solutions d'essai (6.5) et des solutions témoins (6.5).

## 7 Critères de validité

Considérer l'essai comme non valable si les conditions suivantes ne sont pas satisfaites.

- a) La concentration cellulaire des solutions témoins doit avoir été multipliée par un facteur supérieur à 16 en 72 h. Cet accroissement correspond à un taux de croissance (8.2.2) de 0,04/h.

NOTE 7 Les taux de croissance des solutions témoins déterminés lors d'un essai interlaboratoire sont les suivants:

*Skeletonema costatum*: 0,10/h  $\pm$  0,02/h;

*Phaeodactylum tricornutum*: 0,072/h  $\pm$  0,007/h. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fb051caa-f714-47e3-b4f5-de7631260402/iso-10253-1995>

Les valeurs aberrantes de l'essai interlaboratoire proviennent en conséquence d'essais ayant un taux de croissance des solutions témoins inférieur à 0,06/h.

- b) Le pH des solutions témoins ne doit pas avoir varié de plus de  $\pm 1,0$  unité pendant l'essai.

NOTE 8 Les variations de pH au cours de l'essai peuvent avoir une influence significative sur les résultats et, en conséquence, une limite de  $\pm 1,0$  unité est fixée. Toutefois, il convient de maintenir les variations du pH aussi faibles que possible, par exemple en maintenant une agitation continue au cours de l'essai.

## 8 Expression des résultats

### 8.1 Courbes de croissance

Présenter les mesurages des concentrations cellulaires, ou des autres paramètres en corrélation avec les concentrations cellulaires dans le milieu de culture, sous forme de tableau en fonction de la concentration de la substance à expérimenter et en fonction du temps.

Tracer une courbe de la croissance pour chacune des concentrations d'essai et des solutions témoins, en

portant le logarithme de la concentration cellulaire moyenne par rapport au temps.

### 8.2 Calcul du pourcentage d'inhibition

L'évaluation de l'inhibition de la croissance au cours de l'essai est fondée sur l'aire située sous la courbe de croissance (8.2.1) et le taux de croissance (8.2.2). Calculer la période durant laquelle la croissance dans les cultures témoins est considérée comme exponentielle [indiquée comme la partie linéaire de la courbe de croissance logarithmique (8.1)].

#### 8.2.1 Aire située sous la courbe de croissance (intégrale de la biomasse)

Calculer l'aire,  $A$ , sous la double courbe de croissance linéaire (pas le logarithme de la courbe de croissance), pour chaque culture d'essai séparément, au moyen de l'équation

$$A = \frac{t_1(N_1 - N_0)}{2} + \frac{(t_2 - t_1)(N_1 + N_2 - 2N_0)}{2} + \dots + \frac{(t_n - t_{n-1})(N_{n-1} + N_n - 2N_0)}{2}$$

ou

$t_1$  est le temps, en heures, écoulé entre le début de l'essai et le premier mesurage;

$t_2$  est le temps, en heures, écoulé entre le début de l'essai et le deuxième mesurage;

$t_{n-1}$  est le temps, en heures, écoulé entre le début de l'essai et le  $(n-1)$ ème mesurage;

$t_n$  est le temps, en heures, écoulé entre le début de l'essai et le  $n$ ème mesurage;

$N_0$  est la concentration cellulaire nominale initiale (voir note 9);

$N_1$  est la concentration cellulaire mesurée au temps  $t_1$ ;

$N_2$  est la concentration cellulaire mesurée au temps  $t_2$ ;

$N_{n-1}$  est la concentration cellulaire mesurée au temps  $t_{n-1}$ ;

$N_n$  est la concentration cellulaire mesurée au temps  $t_n$ .

NOTE 9 La concentration cellulaire est exprimée en nombre de cellules par millilitre ou toute autre unité appropriée selon la méthode utilisée (5.2).

Calculer les valeurs moyennes de  $A$  pour chaque concentration d'essai et chaque solution témoin. À partir de ces valeurs, calculer le pourcentage d'inhibition pour chaque concentration d'essai, au moyen de l'équation

$$I_{Ai} = \frac{\bar{A}_c - \bar{A}_i}{\bar{A}_c} \times 100$$

où

$I_{Ai}$  est le pourcentage d'inhibition (aire) pour la concentration d'essai  $i$ ;

$\bar{A}_i$  est l'aire moyenne pour la concentration d'essai  $i$ ;

$\bar{A}_c$  est l'aire moyenne pour la culture témoin.

### 8.2.2 Taux de croissance

Calculer le taux de croissance,  $\mu$ , par heure, pour chaque culture d'essai au moyen de l'équation

$$\mu = \frac{\ln N_L - \ln N_0}{t_L}$$

où

$t_L$  est le temps, en heures, écoulé entre le début de l'essai et le dernier mesurage de la période de croissance exponentielle (8.2);

$N_0$  est la concentration cellulaire nominale initiale (voir note 9);

$N_L$  est la concentration cellulaire mesurée au temps  $t_L$ .

Il est également possible de déterminer le taux de croissance à partir de la pente de la droite de régression obtenue en portant le logarithme de la concentration cellulaire moyenne en fonction du temps (8.1).

Calculer les valeurs moyennes de  $\mu$  pour chaque concentration d'essai et chaque solution témoin. À partir de ces valeurs, calculer le pourcentage d'inhibition pour chaque concentration d'essai, au moyen de l'équation

$$I_{\mu i} = \frac{\bar{\mu}_c - \bar{\mu}_i}{\bar{\mu}_c} \times 100$$

où

$I_{\mu i}$  est le pourcentage d'inhibition (taux de croissance) pour la concentration d'essai  $i$ ;

$\bar{\mu}_i$  est le taux de croissance moyen pour la concentration d'essai  $i$ ;

$\bar{\mu}_c$  est le taux de croissance moyen pour le témoin.

### 8.3 Détermination de la CE10 et de la CE50

Présenter les valeurs de  $I_{Ai}$  et  $I_{\mu i}$  sous forme de tableau en fonction des concentrations d'essai correspondantes et porter ces valeurs sur un papier semi-logarithmique ou logarithmique-probit (avec les concentrations d'essai sur l'échelle logarithmique). Tracer une droite approximative et lire sur le graphique la CE50 (concentration d'essai correspondant à un pourcentage d'inhibition de 50 %) et la CE10 (concentration d'essai correspondant à un pourcentage d'inhibition de 10 %).

Il est également possible de calculer les valeurs de CE50 et de CE10 par une méthode de régression (voir par exemple [2] et [3] de l'annexe A).

### 8.4 Détermination de la CSEO

Déterminer la CSEO comme étant la concentration d'essai la plus élevée pour laquelle aucune inhibition significative de croissance n'est observée par rapport aux témoins.

## 9 Présentation des résultats

Noter les valeurs de CE10 et CE50 se rapportant à l'aire de la courbe de croissance (intégrale de la biomasse), CE10<sub>b</sub> et CE50<sub>b</sub>, et celles se rapportant au taux de croissance CE10<sub>t</sub> et CE50<sub>t</sub>. Noter les valeurs de CSEO, respectivement CSEO<sub>b</sub> pour les valeurs se rapportant à l'aire de la courbe de croissance, ou CSEO<sub>t</sub> pour les valeurs se rapportant au taux de croissance. Indiquer également clairement la durée de l'essai, par exemple CE50<sub>b</sub> (0 h-72 h). Indiquer les valeurs de CE10, CE50 et CSEO avec deux chiffres significatifs, normalement en milligrammes par litre.

## 10 Interprétation des résultats

Les valeurs de CE10, CE50 et de CSEO sont des données toxicologiques obtenues à partir d'une expérience réalisée en laboratoire dans des conditions types définies. Elles donnent une indication des risques potentiels, mais ne peuvent pas être utilisées



directement pour prévoir les effets dans un environnement naturel. Lors de l'interprétation des valeurs de CE10, CE50 et de CSEO, il convient de tenir compte de la forme des courbes de croissance. Certaines caractéristiques de ces courbes (par exemple, un départ tardif de la croissance ou une bonne croissance initiale mais ne se maintenant pas) peuvent aider l'interprétation du mode d'action de la substance toxique considérée.

## 11 Reproductibilité

Un essai interlaboratoire effectué suivant la méthode décrite dans la présente Norme internationale a été réalisé par 10 laboratoires en 1989/1990. Les résultats obtenus pour les substances de référence dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) et dichloro-3,5 phénol ( $Cl_2C_6H_3OH$ ) et les souches ISTPM/BAC/CCAP (1077/1C et 1052/1B) sont indiqués dans le tableau 3.

## 12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes:

- une référence à la présente Norme internationale;
- substance à expérimenter: données d'identification chimique;
- organisme d'essai: espèce, origine, numéro de la souche, méthode de culture;
- précisions relatives à l'essai
  - date de début et durée,
  - concentrations d'essai,
  - composition du milieu,

- appareillage de culture et méthode d'incubation,
- intensité et qualité de la lumière,
- température,
- pH des solutions d'essai au début et à la fin de l'essai,
- méthode utilisée pour mesurer la concentration cellulaire;

### e) résultats:

- concentration cellulaire dans chaque flacon de culture au moment de chaque mesurage,
- concentration cellulaire moyenne pour chaque concentration d'essai (et chaque solution témoin) au moment de chaque mesurage,
- courbes de croissance (logarithme de la concentration cellulaire en fonction du temps),
- relation concentration/effet (pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration), représentée sous forme de tableau ou de graphique; par exemple: pourcentage d'inhibition, en échelle probit, en ordonnées en fonction de la concentration, en échelle logarithmique, en abscisses,
- valeurs de CE10 et méthode de détermination,
- valeurs de CE50 et méthode de détermination,
- valeurs de CSEO et méthode de détermination,
- autres effets observés.

Tableau 3 — Résultats de l'essai interlaboratoire

Organisme d'essai et substance d'essai	Participants	Valeurs aberrantes	Paramètre	Valeur moyenne mg/l	Écart-type mg/l	Coefficient de variation %
<i>Skeletonema costatum</i>						
Dichromate de potassium	9	2	CE50 <sub>t</sub>	2,5	1,1	44
	9	2	CE50 <sub>b</sub>	2,1	0,8	37
Dichloro-3,5 phénol	7	2	CE50 <sub>t</sub>	1,6	0,3	18
			CE50 <sub>b</sub>	1,3	0,1	7
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>						
Dichromate de potassium	10	3	CE50 <sub>t</sub>	20,1	5,3	26
			CE50 <sub>b</sub>	6,0	1,8	31
Dichloro-3,5 phénol	10	3	CE50 <sub>t</sub>	2,7	0,2	8,6
			CE50 <sub>b</sub>	1,5	0,3	20