
**Qualité de l'eau — Détermination de
l'effet toxique d'échantillons de sédiment
et de sol sur la croissance, la fertilité et la
reproduction de *Caenorhabditis elegans*
(nématodes)**

*Water quality — Determination of the toxic effect of sediment and soil
samples on growth, fertility and reproduction of Caenorhabditis elegans
(Nematoda)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10872:2010

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-
c107c1394db2/iso-10872-2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010)



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2010

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe.....	3
5 Réactifs.....	3
6 Appareillage	6
7 Substance de référence	7
8 Organismes	7
8.1 Organisme d'essai	7
8.2 Source nutritive	7
9 Cultures mères et pré-cultures	7
9.1 Cultures mères	7
9.2 Pré-culture	8
10 Mode opératoire.....	8
10.1 Préparation du milieu nutritif	8
10.2 Préparation du matériau d'essai et des témoins.....	9
10.3 Essai	9
10.4 Séparation des nématodes.....	10
10.5 Mesurages et calculs	10
10.6 Planification de l'essai	12
11 Critères de validité	13
12 Expression des résultats	13
13 Rapport d'essai.....	14
Annexe A (informative) Illustrations des vers adultes <i>C. elegans</i>	15
Annexe B (informative) Données relatives à la fidélité	16
Bibliographie.....	18

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 10872 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 5, *Méthodes biologiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 10872:2010
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>

Introduction

Les nématodes constituent le groupe de métazoaires le plus abondant et le plus riche en espèces dans les sédiments et les sols^{[1][2]} et jouent un rôle important dans les réseaux trophiques benthiques et les réseaux trophiques du sol^{[3][4]}. Les nématodes sont des organismes endobenthiques que l'on trouve à différents niveaux trophiques en raison de l'évolution des différents types d'alimentation (bactérovores, alguivores, omnivores, prédateurs).

L'organisme d'essai *Caenorhabditis elegans* (Maupas, N2 var. Bristol) est un nématode bactérovore que l'on trouve principalement dans les sols terrestres mais également parfois dans les sédiments aquatiques des systèmes d'eau douce polysaprophes^{[5][6]}. *C. elegans* est un organisme largement étudié et très facile à cultiver^[7].

L'essai est conçu pour mesurer la réponse à des substances dissoutes et liées à des particules^{[8][9][10]}. Il s'applique aux sédiments, aux sols, aux déchets, à l'eau interstitielle, aux éluviats et aux extraits aqueux.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 10872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>

iTeh STANDARD PREVIEW **(standards.iteh.ai)**

ISO 10872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>

Qualité de l'eau — Détermination de l'effet toxique d'échantillons de sédiment et de sol sur la croissance, la fertilité et la reproduction de *Caenorhabditis elegans* (nématodes)

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. La présente Norme internationale n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais réalisés conformément à la présente Norme internationale soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de la toxicité d'échantillons environnementaux sur la croissance, la fertilité et la reproduction de *Caenorhabditis elegans*. La méthode s'applique aux sédiments d'eau douce (salinité maximale de 5 ‰), sols et déchets contaminés, ainsi qu'à l'eau interstitielle, aux éluviats et aux extraits aqueux obtenus à partir de sédiments, sols et déchets contaminés.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence (y compris les éventuels amendements) s'applique.

ISO 5667-16, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 16: Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons*

ISO 7027, *Qualité de l'eau — Détermination de la turbidité*

ISO 10390, *Qualité du sol — Détermination du pH*

ISO 10523, *Qualité de l'eau — Détermination du pH*

ISO 11465, *Qualité du sol — Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau — Méthode gravimétrique*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

boîte de gélose

boîte de Petri remplie de gélose NGM (5.8)

3.2

témoin aqueux

eau servant de témoin négatif pour les essais sur des échantillons aqueux

3.3

sédiment témoin artificiel

sédiment artificiel défini (5.12)

3.4

culture mère bactérienne

culture mère de bactéries nutritives

3.5

réplicat à blanc

réplicat supplémentaire ne contenant pas d'organisme d'essai mais traité de la même façon que les autres répliqués d'un échantillon

3.6

témoin

traitement servant de témoin négatif auquel est comparé l'effet sur le matériau d'essai correspondant (3.2, 3.3, 3.7)

3.7

sol témoin

sol standard défini (5.13)

3.8

«larve dauer»

stade larvaire quiescent

stade de développement adopté par *C. elegans* pour supporter des périodes de pénurie alimentaire

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-4107-13943226-10872-2010>

NOTE Les «larves dauer» poursuivent leur développement normal en cas d'apport de nourriture.

3.9

organismes d'essai exposés

individus de *C. elegans* introduits au début de l'essai

3.10

milieu nutritif

suspension bactérienne aqueuse définie (10.1)

3.11

stade J₁

premier des quatre stades juvéniles (J₁ à J₄) au cours du développement de *C. elegans*

3.12

culture nocturne

culture définie d'*Escherichia coli* dans du milieu LB (9.1.2)

3.13

boîte sans nourriture

boîte de gélose avec des «larves dauer»

3.14

matériau d'essai

portion discrète d'un échantillon environnemental contaminé (10.2) ou solution de la substance de référence (Article 7)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4 Principe

Les organismes juvéniles de l'espèce *C. elegans* sont exposés à l'échantillon environnemental pendant une période de 96 h. Dans les témoins, les organismes d'essai exposés peuvent accomplir un cycle de vie complet au cours de cette période. Un effet toxique de l'échantillon environnemental est observé si l'inhibition de la croissance, de la fertilité ou de la reproduction de *C. elegans* comparée au témoin (témoin aqueux, sédiment ou sol témoin) dépasse une certaine valeur seuil. La toxicité peut être quantifiée par l'intensité de l'effet en pourcentage d'inhibition.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Eau, distillée ou déionisée ou eau d'une pureté équivalente, conductivité $\leq 10 \mu\text{S/cm}$.

5.2 Milieu LB.

Dissoudre

— 0,5 g de peptone de caséine,

— 0,25 g d'extrait de levure,

— 0,5 g de chlorure de sodium (NaCl),

dans 50 ml d'eau dans une fiole de 250 ml et autoclaver pendant 20 min à 121 °C.

5.3 Solution mère de cholestérol.

ISO 10872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-100000000000/iso-10872-2010>

Dissoudre 500 mg de cholestérol en poudre dans 100 ml d'éthanol absolu (pureté > 99 %) en agitant et en chauffant légèrement (< 50 °C). Remplacer l'éthanol perdu par évaporation.

5.4 Solution mère de chlorure de calcium, 1 mol/l CaCl_2 .

Dissoudre 147 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ dans 1 000 ml d'eau et autoclaver pendant 20 min à 121 °C.

5.5 Solution mère de sulfate de magnésium, 1 mol/l MgSO_4 .

Dissoudre 247 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ dans 1 000 ml d'eau et autoclaver pendant 20 min à 121 °C.

5.6 Hydroxyde de potassium, KOH, pastilles.

5.7 Solution tampon de phosphate de potassium, 1 mol/l KH_2PO_4 .

Dissoudre 136 g de KH_2PO_4 dans 1 000 ml d'eau, ajuster le pH à $6,0 \pm 0,2$ avec du KOH (5.6) et autoclaver pendant 20 min à 121 °C.

5.8 Milieu gélifié de croissance des nématodes (gélose NGM).

Dissoudre

- 2,5 g de peptone de caséine,
- 17 g de gélose bactériologique,
- 3 g de NaCl,

dans 900 ml d'eau dans une fiole de 1 000 ml et autoclaver pendant 20 min à 121 °C. Après refroidissement à 55 °C, ajouter les solutions stériles suivantes:

- 1 ml de solution mère de cholestérol (5.3);
- 1 ml de solution mère de chlorure de calcium (5.4);
- 1 ml de solution mère de sulfate de magnésium (5.5);
- 25 ml de solution tampon de phosphate de potassium (5.7);

et compléter à 1 000 ml avec de l'eau stérile.

Transférer des portions de gélose NGM (20 ml à 25 ml environ) dans des boîtes de Petri stériles.

5.9 Milieu M9.

Dissoudre

- 6 g de Na_2HPO_4 ,
- 3 g de KH_2PO_4 ,
- 5 g de NaCl,
- 0,25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

dans 1 000 ml d'eau dans une fiole de 1 000 ml.

5.10 Solution mère de rose Bengale.

Ajouter environ 300 mg de rose Bengale dans 1 000 ml d'eau et agiter soigneusement.

5.11 Suspension de Ludox.

Diluer du Ludox TM 50¹⁾ (silice colloïdale; masse volumique: 1,4 g/cm³) avec de l'eau, jusqu'à une masse volumique de $1,13 \pm 0,005 \text{ g/cm}^3$ [mélanger environ 1 part de Ludox TM 50¹⁾ avec 2 parts d'eau et contrôler la masse volumique en pesant 1 ml de la suspension sur une balance; 1 ml de la suspension pèse $(1,13 \pm 0,005) \text{ g}$]. Environ 50 ml de suspension de Ludox sont requis pour un échantillon.

1) LudoxTM 50 est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5.12 Sédiment témoin artificiel.

Mélanger soigneusement les composés suivants dans les proportions indiquées:

- Al_2O_3 , 20 % (fraction massique);
- CaCO_3 , 1 % (fraction massique);
- dolomite (argile), 0,5 % (fraction massique);
- Fe_2O_3 , 4,5 % (fraction massique);
- sable siliceux (W4, granulométrie moyenne: 0,063 mm), 30 % (fraction massique);
- sable siliceux (de 0,1 mm à 0,4 mm), 40 % (fraction massique);
- tourbe (tourbe décomposée à partir de haute tourbière, non traitée, finement moulue et tamisée à < 1 mm), 4 % (fraction massique).

Le sédiment sec peut être conservé sans restriction.

Ce sédiment sert de témoin négatif pour les essais sur sédiments.

AVERTISSEMENT — Si un sédiment témoin artificiel différent est utilisé (de l'OECD 218, par exemple), une teneur en kaolin > 5 % (fraction massique) peut provoquer des effets négatifs sur la croissance, la fertilité et la reproduction de *C. elegans*.

5.13 Sol témoin.

Sol standard St. 2.2, de l'institut LUFA²⁾: [ISO 10872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/711cc3d1-8642-4e24-a279-c107c1394db2/iso-10872-2010>

- type de sol: sable limoneux;
- carbone organique: $(2,16 \pm 0,4)$ % (fraction massique);
- pH: $5,4 \pm 0,1$;
- capacité d'échange cationique: (10 ± 1) mmol_c/100 g;

NOTE mmol_c/100 g est synonyme de meq/100 g.

- capacité de rétention d'eau: $(48,2 \pm 5)$ g/100 g;
- teneur en argile: $(6,4 \pm 0,9)$ % (fraction massique) de particules < 0,002 mm;
- teneur en limon: $(12,7 \pm 2,6)$ % (fraction massique) de particules de 0,002 mm à 0,063 mm;
- teneur en sable: $(81,2 \pm 5,1)$ % (fraction massique) de particules de 0,063 mm à 2 mm.

Ce sol sert de témoin négatif pour les essais sur sols.

2) Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer.