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

Water quality — Sampling —

Part 16: Guidance on biotesting of samples
iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5667-16:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5667-16:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos	v
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Lignes directrices relatives au dispositif expérimental	5
4.1 Généralités.....	5
4.2 Réplicats.....	5
4.2.1 Généralités.....	5
4.2.2 Plus faible dilution sans effet (DMSE).....	6
4.2.3 Tests d'hypothèses — comparaisons de deux échantillons.....	6
4.2.4 Relation concentration/effet et dilution/effet.....	7
5 Évaluation	7
5.1 Généralités.....	7
5.2 Analyse statistique.....	8
6 Échantillonnage et transport	8
6.1 Généralités.....	8
6.2 Matériel d'échantillonnage.....	9
6.2.1 Généralités.....	9
6.2.2 Récipient pour échantillons.....	9
6.3 Condition de remplissage des récipients pour échantillons.....	10
6.4 Identification et enregistrement des échantillons.....	10
6.5 Sous-échantillonnage.....	10
6.6 Transport.....	11
6.7 Contamination en cours d'échantillonnage.....	11
6.8 Techniques de contrôle qualité de l'échantillonnage.....	11
7 Prétraitement	12
7.1 Généralités.....	12
7.2 Préservation et conservation.....	12
7.3 Décongélation.....	13
7.4 Homogénéisation.....	13
7.5 Séparation des matières solubles et particulières.....	13
7.6 Préconcentration.....	14
7.6.1 Généralités.....	14
7.6.2 Méthodes d'extraction.....	15
7.7 Ajustement du pH.....	15
8 Matériel et équipements	16
8.1 Choix du matériel.....	16
8.2 Nettoyage du matériel et des équipements.....	16
9 Détérioration des performances lors de la réalisation de l'essai	17
9.1 Problèmes et mesures préventives concernant les échantillons contenant des ingrédients susceptibles d'être éliminés.....	17
9.1.1 Généralités.....	17
9.1.2 Volatilisation.....	17
9.1.3 Moussage.....	18
9.1.4 Adsorption.....	18
9.1.5 Précipitation/floculation.....	18
9.1.6 Dégradation.....	18
9.2 Problèmes et mesures préventives concernant les échantillons colorés et/ou turbides.....	18
10 Préparation de solutions mères et de lots d'essai	19

10.1	Substances solubles dans l'eau	19
10.2	Substances faiblement solubles	19
10.2.1	Généralités	19
10.2.2	Essai dans la gamme de solubilité dans l'eau.....	19
10.2.3	Dispersion et émulsion	20
10.2.4	Problèmes spécifiques aux mélanges de substances ou de produits techniques.....	20
10.2.5	Essai limite.....	21
11	Assurance qualité pour les essais biologiques.....	21
11.1	Généralités.....	21
11.2	Assurance qualité dans le contexte de l'analyse des échantillons environnementaux.....	22
12	Rapport.....	22
	Bibliographie.....	26

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5667-16:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 6, *Échantillonnage (méthodes générales)*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 5667-16:1998), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Une liste de toutes les parties de la série de normes ISO 5667 est disponible sur le site Internet de l'ISO.

Introduction

Les essais biologiques sont appropriés pour la détermination des effets d'échantillons environnementaux ou les substances chimiques sur l'organisme d'essai dans des conditions d'essai normalisées spécifiées. Les échantillons environnementaux sont, par exemple, les eaux résiduaires communales et industrielles traitées, les eaux douces, les extraits aqueux (par exemple lixiviats et éluats) de matières solides, l'eau interstitielle des sédiments. Les effets peuvent être la stimulation ou l'inhibition et peuvent être déterminés par la réaction de l'organisme d'essai (par exemple mort, croissance, modifications morphologiques et physiologiques ou, de manière générale, modifications dans les mécanismes d'action moléculaires). Les effets d'inhibition peuvent être déclenchés par des constituants toxiques de l'eau ou par d'autres influences nocives.

La toxicité mesurable au cours de l'essai biologique est le résultat de l'interaction entre une substance toxique unique, un mélange de substances ou les constituants d'un échantillon environnemental et l'organisme d'essai. Le potentiel de protection du système biologique, à savoir l'organisme d'essai, par exemple par détoxification métabolique et excrétion, fait partie intégrante de l'essai biologique.

Hormis les effets toxiques directs d'un ou plusieurs constituants de l'échantillon, des effets biologiques peuvent se produire par l'action combinée de tous les constituants d'un échantillon. Ces effets combinés incluent l'impact, par exemple, de substances non toxiques en elles-mêmes, mais qui affectent les propriétés chimiques ou physiques des lots d'essai en interférant avec les additifs spécifiques de l'essai (par exemple nutriments, sels) et, par conséquent, les conditions de vie des organismes d'essai. Ceci s'applique par exemple aux substances consommant l'oxygène, aux substances colorées ou aux matières turbides qui réduisent l'exposition à la lumière.

Les essais biologiques comprennent également les essais qui étudient l'effet des organismes sur les substances (par exemple les études de dégradation microbienne).

Les résultats de l'essai biologique font principalement référence à l'organisme utilisé pour l'essai et aux conditions définies stipulées pour le mode opératoire. Un effet nocif établi au moyen d'essais biologiques normalisés peut renseigner sur un danger potentiel pour les organismes et les biocénoses aquatiques. Cependant, les résultats ne permettent pas de tirer des conclusions directes ou d'extrapolation en ce qui concerne la présence d'effets similaires dans le milieu aquatique. Ceci s'applique en particulier aux essais suborganismiques, dans la mesure où des propriétés et des fonctions physiologiques importantes des organismes entiers (par exemple téguments protecteurs, mécanismes de réparation) sont supprimées ou désactivées.

En principe, aucun organisme d'essai ne peut être utilisé pour évaluer tous les effets possibles sur la biocénose ou l'écosystème dans les diverses combinaisons de conditions abiotiques et biotiques possibles. Seules quelques espèces («modèles») représentant les fonctions écologiques majeures peuvent en pratique être soumises à essai.

Outre ces limitations fondamentales et pratiques dans la sélection des organismes d'essai, il convient de tenir compte de certains problèmes au cours de l'échantillonnage et du traitement des échantillons, afin d'éviter toute modification des propriétés de l'échantillon. Cela s'applique à la méthode d'échantillonnage, y compris le matériel d'échantillonnage et le récipient, ainsi que le transport vers le laboratoire. La méthode de prétraitement et de conservation de l'échantillon, ainsi que la préparation, par exemple, de solutions mères, peuvent également avoir une influence sur le résultat de l'essai.

En outre, l'échantillon à soumettre à essai peut poser des problèmes d'expérimentation en matière d'essai biologique. Les échantillons environnementaux (par exemple eaux résiduaires, éluats) sont des mélanges complexes et peuvent contenir, par exemple, des substances difficilement solubles, volatiles, instables, colorées ou des particules en suspension, parfois colloïdales. La complexité et l'hétérogénéité des matériaux entraînent toute une variété de problèmes expérimentaux lors de la réalisation des essais biologiques.

Des problèmes spécifiques sont liés à l'instabilité du matériau soumis à essai en raison des réactions et des procédés, tels que ceux de nature:

- physique (par exemple séparation de phases, sédimentation, volatilisation);
- chimique (par exemple hydrolyse, photodégradation, précipitation); et/ou
- biologique (par exemple biodégradation, biotransformation, capacité d'absorption biologique dans les organismes).

D'autres problèmes, particulièrement en cas d'application de mesures spectrométriques, sont liés à la turbidité et à la couleur du lot d'essai.

Il convient de procéder à l'analyse statistique des données issues des essais biologiques concernant les échantillons environnementaux en fonction de l'état actuel de la technique, sauf indication contraire dans la norme spécifique relative aux essais biologiques.

Pour finir, il est recommandé de mettre en œuvre et de maintenir un système de management de la qualité, qu'un laboratoire prenne part ou non à des essais sur des substances ou des échantillons environnementaux.

Le présent document fait partie d'un groupe de Normes internationales relatives à l'échantillonnage des eaux et sédiments et est destiné à être lu conjointement avec les autres parties de la série de normes ISO 5667, en particulier avec l'ISO 5667-1, l'ISO 5667-3 et l'ISO 5667-15.

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

[ISO 5667-16:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5667-16:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/808a7d0a-ca81-4da1-84ba-f6ad8629b658/iso-5667-16-2017>

Qualité de l'eau — Échantillonnage —

Partie 16:

Lignes directrices pour les essais biologiques des échantillons

1 Domaine d'application

Le présent document fournit des lignes directrices pour l'échantillonnage, le prétraitement, la mise en œuvre et l'évaluation des échantillons environnementaux dans le cadre de la réalisation d'essais biologiques. Des informations sont données sur la manière de traiter les problèmes, pour les essais biologiques, liés à l'échantillon et à l'adaptation du dispositif expérimental.

Elles sont destinées à diffuser une expérience pratique concernant les précautions à prendre en décrivant des méthodes qui se sont révélées satisfaisantes pour résoudre ou éliminer certains problèmes expérimentaux au cours des essais biologiques des eaux, par exemple.

Le présent document traite en premier lieu des problèmes liés aux substances en ce qui concerne l'échantillonnage et le prétraitement des échantillons environnementaux (par exemple échantillons d'eaux résiduaires) pour la réalisation d'essais biologiques.

Ces lignes directrices portent sur les essais écotoxicologiques réalisés avec des organismes (essais biologiques monospécifiques; in vivo et in vitro). Certaines caractéristiques traitées dans le présent document s'appliquent également à l'échantillonnage et la préparation d'échantillons pour les essais biologiques utilisant des systèmes unicellulaires (essais biologiques in vitro) et les études de biodégradation. Les essais sur substances dans la gamme de solubilité dans l'eau sont également traités.

Il a été fait référence aux Normes internationales et aux directives existantes dans toute la mesure du possible. Des informations provenant de publications ou de communications orales ont également été utilisées.

Le présent document s'applique aux essais biologiques destinés à déterminer l'effet des échantillons environnementaux tels que les eaux résiduaires communales et industrielles traitées, les eaux souterraines, les eaux douces, les extraits aqueux (par exemple lixiviats et éluats), l'eau interstitielle des sédiments et les sédiments entiers. Il s'applique également aux substances chimiques.

Le présent document n'est pas applicable à l'examen bactériologique des eaux. Des méthodes appropriées pour l'examen bactériologique sont décrites dans d'autres documents (voir l'ISO 19458^[17]).

2 Références normatives

Il n'y a aucune référence normative dans le présent document.

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques, destinées à être utilisées pour la normalisation, aux adresses suivantes:

- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>.
- Plateforme de consultation en ligne de l'ISO: disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>.

**3.1
blanc**

mélange d'eau et de nutriments ne contenant pas d'organisme d'essai

**3.2
densité cellulaire**

x

nombre de cellules par unité de volume de milieu

Note 1 à l'article: La densité cellulaire est exprimée en cellules par millilitre.

[SOURCE: ISO 10253:2016, 3.1]^[6]

**3.3
témoin**

milieu témoin (3.4) ou *sédiment témoin* (3.5), incluant les organismes utilisés dans le cadre de l'essai, sans échantillon d'essai

**3.4
milieu témoin**

combinaison de l'eau de dilution et/ou du milieu nutritif utilisée pour l'essai

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.6]^[18]

**3.5
sédiment témoin**

sédiment artificiel ou naturel défini utilisé au cours de l'essai

**3.6
niveau de dilution**

D

inverse de la valeur de la fraction volumique de l'échantillon soumis à essai dans l'eau de dilution (3.7) dans laquelle l'essai est réalisé

EXEMPLE 250 ml d'eaux résiduaires dans un volume total de 1 000 ml (fraction volumique de 25 %) représentent un niveau de dilution $D = 4$.

[SOURCE: ISO 15088:2007, 3.2, modifié — la phrase « des eaux résiduaires dans l'eau de dilution dans laquelle l'essai est réalisé » a été remplacée par la phrase « de l'échantillon soumis à essai dans l'eau de dilution dans laquelle l'essai est réalisé »]^[13]

**3.7
eau de dilution**

eau ajoutée à l'échantillon soumis à essai afin de préparer une série définie de dilutions

Note 1 à l'article: La composition de l'eau est spécifiée dans la norme correspondante.

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.7, modifié — Note 1 à l'article a été ajoutée]^[18]

**3.8
concentration efficace
 CE_x**

concentration du matériau soumis à essai dans l'eau ou le sédiment qui entraîne x % de variation de la réponse sur un intervalle de temps spécifié

[SOURCE: ISO/TS 20281:2006, 3.8.1, modifié — le mot « quantique » a été supprimé du terme et du terme abrégé ; « sol » et « (par exemple immobilité) » ont été supprimés de la définition ; l'EXEMPLE et les Notes 1 et 2 à l'article ne sont pas incluses]^[20]

3.9**blanc de terrain**

récipient préparé dans le laboratoire utilisant de l'eau pure ou toute autre matrice de blanc et destiné à être emporté par le personnel d'échantillonnage sur le terrain, pour être exposé à l'environnement dans lequel l'échantillonnage est effectué afin de vérifier l'absence de contamination au cours de l'échantillonnage

[SOURCE: ISO 11074:2015, 4.5.3]^[9]

3.10**taux de croissance**

taux proportionnel de l'augmentation de la biomasse par unité de temps: (1/jour)

[SOURCE: ISO 10253:2016, 3.2, modifié — le mot « spécifique » a été supprimé du terme et du terme abrégé ; la phrase « de la densité cellulaire » a été remplacée par la phrase « de la biomasse » dans la définition ; la formule et la Note 1 à l'article ne sont pas incluses]^[6]

3.11**plus faible dilution sans effet****facteur de dilution****DMSE**

niveau de dilution D (3.6) pour lequel aucune inhibition n'est observée ou bien uniquement des effets ne dépassant pas la variabilité spécifique à l'essai

[SOURCE: ISO 15088:2007, 3.5]^[13]

3.12**milieu nutritif**

solution aqueuse contenant les nutriments et les micronutriments essentiels pour la croissance de l'organisme d'essai

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.17, modifié — la phrase « des lentilles d'eau » a été remplacée par la phrase « de l'organisme d'essai »]^[18]

3.13**témoin positif**

substance de référence (3.14) bien caractérisée, qui, soumise à essai conformément à une méthode d'essai spécifique, démontre l'aptitude du système d'essai à conduire à une réponse reproductible, judicieusement positive ou réactive vis-à-vis du système d'essai particulier

[SOURCE: ISO 10993-12:2012, 3.14, modifié — « matériau ou substance » a été remplacé par « substance de référence »]^[8]

3.14**substance de référence**

substance connue utilisée pour vérifier la sensibilité de la méthode

3.15**lot de référence**

mélange d'eau de dilution, d'additifs spécifiques à l'essai et de substance de référence, incluant les organismes d'essai

3.16**réplicat**

un parmi un nombre sélectionné de *lots d'essai* (3.24) identiques ou de *lots de référence* (3.15) identiques

3.17**échantillon**

quantité de matériau prélevée dans un volume plus important de matériau

Note 1 à l'article: La méthode de sélection des échantillons peut être décrite dans le plan d'échantillonnage.

Note 2 à l'article: Le matériau provient de l'environnement (par exemple eaux résiduaires, sédiment ou éluat), d'une substance ou préparation chimique ou d'un matériau associé.

[SOURCE: ISO 16133:2004, 2.11, modifié — les Notes 1 et 2 à l'article ont été ajoutées]^[15]

3.18

prétraitement des échantillons

nom générique regroupant tous les modes opératoires utilisés pour le conditionnement d'un échantillon afin de l'amener à un état défini permettant de le soumettre à un examen

Note 1 à l'article: Selon les exigences de la méthode, le prétraitement des échantillons inclut par exemple la préservation et la conservation, la centrifugation, la filtration, l'homogénéisation, la préconcentration et l'ajustement du pH.

3.19

conservation d'un échantillon

processus, et son résultat, consistant à garder un échantillon disponible dans des conditions prédéfinies, pour un laps de temps (en général) déterminé entre le prélèvement et le traitement de cet échantillon

Note 1 à l'article: Le temps déterminé est le laps de temps maximal.

[SOURCE: ISO 5667-3:2012, 3.3]^[2]

3.20

culture mère

culture monospécifique destinée à conserver en laboratoire l'espèce définie d'origine

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.21, modifié — la définition « culture monospécifique de lentille d'eau, dans le but de conserver en laboratoire l'espèce définie *Lemna* d'origine et de fournir l'inoculum pour la préculture » a été remplacée ; Note 1 à l'article a été supprimée]^[18]

3.21

solution mère

solution dont la (les) concentration(s) d'analyte est (sont) précisément connue(s), préparée à partir de produits chimiques de pureté appropriée

[SOURCE: ISO 11885:2007, 3.23]^[10]

3.22

durée de conservation

période entre le remplissage du récipient et le traitement ultérieur de l'échantillon au laboratoire, si l'échantillon est conservé dans des conditions prédéfinies

Note 1 à l'article: L'échantillonnage prend fin dès que le récipient a été rempli avec l'échantillon. La durée de conservation prend fin lorsque l'échantillon est prélevé par l'analyste pour commencer la préparation de l'échantillon avant l'analyse.

[SOURCE: ISO 5667-3:2012, 3.4 — « de stockage » a été change à « de conservation » dans le terme ; Note 2 à l'article a été supprimé]^[2]

3.23

sous-échantillon

partie d'un échantillon, idéalement représentative de l'échantillon dans lequel elle est prélevée

[SOURCE: ISO 5667-19:2004, 3.7]^[5]

3.24

lot d'essai

milieu d'essai incluant les organismes utilisés pour l'essai

[SOURCE: ISO 20079:2005, 3.22]^[18]