



Couvet, le 04 avril 2012

Analyses environnementales
Ecotoxicologie

M. Jean-Daniel CHOLLET
Rue du Sablon 13
1110 MORGES

V/réf.

N/réf. 8842-rap

Concerne : Résultats des bioessais de toxicité -
Biocat - Eau d'incubateur (Culture d'archées) du 26-03-2012.

Monsieur,

Veuillez trouver ci-joint les résultats détaillés des bioessais effectués sur l'échantillon mentionné. Le tableau et la figure ci-après récapitulent les résultats principaux.

Bioessai Echantillon	Algues vertes <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	
	avec concentré nutritif	sans concentré nutritif
A. Eau d'incubateur (culture d'archées)	Peu toxique (CE ₅₀ ≥ 90 % ; CE ₂₀ = 84,7 %)	CE ₅₀ - 72h = 87,0 % [84,1 – 89,8 %]

Bioessai Echantillon	Microcrustacés <i>Daphnia magna</i> 24 h. et 48 h.	Bactéries <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox®) 15 min. et 30 min.	Rotifères <i>Brachionus calyciflorus</i> 48 h.
A. Eau d'incubateur	Non toxique	Non toxique	Non toxique

Les bioessais employés sont ceux déterminant un effet éventuel sur les algues vertes, les microcrustacés et les bactéries luminescentes ; en complément, un test a aussi été effectué avec les rotifères (inhibition de la croissance de *Pseudokirchneriella subcapitata*, selon ISO 8692; AFNOR T90-375 ; immobilisation de *Daphnia magna*, selon la norme ISO 6341; inhibition de la luminescence de *Vibrio fischeri*; test Microtox®, selon ISO 11348-3, AFNOR T90-320 ; inhibition de la croissance de population de *Brachionus calyciflorus*, selon draft ISO 20666). Les résultats pour l'ensemble des contrôles témoins et les substances de référence sont conformes aux lignes directrices et ils valident donc ceux de toute la série.

L'essai standard avec les algues implique l'ajout d'un concentré nutritif, afin de s'assurer que les échantillons ne présentent pas de carence en nutriments. Ce concentré contient des macronutriments, ainsi que des éléments-traces, le complexant EDTA et du carbonate de sodium à des concentrations finales équivalentes à celles du contrôle témoin. Compte tenu des caractéristiques initiales de l'échantillon ("bouillon de culture"), l'essai a aussi été effectué sur la solution sans l'ajout du concentré nutritif.

Pour rappel en présence d'un échantillon induisant un effet toxique, les résultats d'un bioessai sont condensés et exprimés par la concentration dite efficace qui inhibe de 50% ou x% la croissance des organismes (CE₅₀ ou CE_x) au terme du test. Plus cette concentration est faible, plus toxique est la solution. Les valeurs CE_x sont reportées avec un intervalle de confiance de 95%. Pour les algues, une NOEC (No observed effect concentration) a aussi pu être déterminée.

1 / 5

Parmi les résultats obtenus, seul le test avec les algues vertes montre une inhibition de leur croissance. Cette inhibition reste faible pour la solution avec nutriments (puisque seule une CE_{20} peut être calculée), mais elle s'avère plus manifeste pour la solution sans concentré nutritif ($CE_{50} = 87,0\%$; $NOEC = 52,5\%$).

Les données pour les autres tests avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les rotifères indiquent qu'il n'y a aucun effet de toxicité à court terme envers ces organismes.

Dans le cadre des travaux du groupe méthodologique *Tests écotoxicologiques* de la CIPEL (Commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution, Lausanne), la classification ci-dessous a été proposée pour décrire la qualité écotoxicologique des eaux usées et d'effluents de STEP *. Ces classes permettent une appréciation de l'écotoxicité des échantillons, ce qui facilite la comparaison entre les sites et la communication des résultats.

Classe d'écotoxicité	I. Non toxique	II. Peu toxique	III. Toxique	IV. Très toxique
<i>Daphnia magna</i> , <i>Vibrio fischeri</i> , et/ou <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CE_{50} non mesurable (ou $CE_{20} > 50\%$) $UT_{50} < 1,0$	$CE_{50} > 50\%$ $UT_{50} < 2,0$	$CE_{50} < 50\%$ $UT_{50} > 2,0$	$CE_{50} < 10\%$ $UT_{50} > 10$
La classe est définie avec la concentration d'effet la plus sensible des divers tests et durées d'exposition				

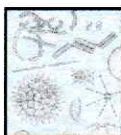
En conclusion et sur la base des données obtenues, la qualité écotoxicologique de l'échantillon *A. Eau d'incubateur* (23-03-2012) correspond à la classe I considérée comme non toxique.

En vous souhaitant bonne réception de ces résultats et en restant à votre disposition pour tout renseignement complémentaire, veuillez agréer, Monsieur, nos meilleures salutations.

Sergio Santiago



* Commission internationale pour la protection des eaux du Léman contre la pollution ;
Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement (2002). Soluval Santiago, Couvet (éd.), 55 pp.
www.cipel.org/français/publications/ecotox.htm

**Soluval Santiago**

Analyses environnementales

Rue Edouard-Dubied 2 Tél: 032 863 43 60
CH - 2108 COUVET e-mail: ssantiago@bluewin.ch**Bioessais de toxicité****Récapitulation des résultats**

Identification									
Origine : BIOCAT - JD CHOLLET					Destinataire : M. Jean-Daniel Chollet				
Type d'échantillon : Eau d'incubateur					Société : JD CHOLLET				
Prélèvement : ☐ instantané ☐ composite					Adresse : 1110 Morges				
Date : 26 mars 2012					Plan d'analyse(s) : algues, D.m, Mtox, +Rot.				
Effectué par : M. J.-D. Chollet					Enregistrement n° : 8842				
Echantillons n° : A. Eau d'incubateur (culture d'archées)					Responsable : S. Santiago				
Remarque : <i>suspension légèrement brunâtre</i>									

Algues vertes		Organisme : <i>P. subcapitata</i> (<i>S. capricornutum</i>) UTEX1648		Date : 26 / 29-03-2012		
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>		Microplaque (2,2 ml); 3-4 répliques; 23±2°C; 5 Klux; 0 t/m		Effectué par : SS		
(selon ISO 8692 ; AFNOR T90-375)		Dilution : milieu ISO 8692; Compteur Coulter®		Contrôlé par :		
Echantillon n°		Croissance des algues				Densité cellulaire initiale = 1.00E+04
Concentration [%]		Concentration cellulaire à 72 h. (cellules * 10E+04 / mL)				Croissance
		Répl. 1	Répl. 2	Répl. 3	Répl. 4	Inhibition
						(%)
Contrôle témoin		385.4	379.7	429.3		100%
A. Eau d'incubateur		294.4	301.3	311.7		24.0%
Eau filtrée, avec ajout		373.3	416.8	446.9		-3.6%
de concentré nutritif		469.0	510.8	459.2		-20.5%
A'. Eau d'incubateur		203.4	215.6	198.8		48.3%
Eau filtrée, sans ajout		301.3	323.2	335.2		19.7%
de concentré nutritif		440.4	418.1	429.9		-7.9%
		38.2	495.5	552.6		-31.6%
Témoin négatif (blanc)		1.2				0.3%

Remarques : concentré nutritif = P, N, Ca, Mg, Fe, EDTA + oligoéléments (concentrations identiques au contrôle - milieu ISO)

Conclusions - Commentaires		Essai valide ☐ oui - ☐ non	
A. Eau d'incubateur : Peu toxique ($CE_{50} \geq 90\%$)		Contrôle témoin : $N_{fin} \geq 32 \times N_{init}$ ☐	
Eau filtrée avec		pH initial = 7,9 ; pH final = 9,0	
concentré nutritif		variation pH $\leq 1,5$ ☐	
NOEC = 66,8 % LOEC = 85,9 %		Température ($23 \pm 2^\circ C$) : $24,8 \pm 0,4^\circ C$ ☐	
A'. Eau d'incubateur : $CE_{50} - 72h = 87,0\%$ [$84,1 - 91,3\%$]		Echantillons : $6,5 \leq pH \leq 8,5$ ☐	
Eau filtrée sans		Solution testée : pH = 7,5 ; K = 705 $\mu S/cm$	
concentré nutritif		Réf. $K_2Cr_2O_7$ [0,25 - 0,80 mg/l]	
NOEC = 52,5 % LOEC = 66,8 %		Date : 03 / 01 / 2012 ☐	
NOEC = No observed effect concentration; LOEC = Lowest observed EC		$CE_{50-72h} = 0,62\text{ mg/l}$ [0,57 - 0,66 mg/l]	

Daphnia magna		Organisme : <i>Daphnia magna</i> IPL-96, < 24 h.		Début : 26 / 03 / 2012	
(selon ISO 6341 ; OCDE 202)		Ind./répl. = 5; répl./concent. = 4; vol./répl. = 15 ml.		Effectué par : SS	
		Eau de dilution : milieu daphnies ISO 6341		Contrôlé par :	
Echantillon n°		Immobilisation - mortalité		Paramètres physico-chimiques à 48 h.	
Concentration [%]		à 24 h.		à 48 h.	
		nbre total	%	nbre total	%
Contrôle témoin		0 / 20	0%	0 / 20	0%
A. Eau d'incubateur		0 / 20	0%	0 / 20	0%
100		0 / 20	0%	0 / 20	0%
85		0 / 20	0%	0 / 20	0%
70		0 / 20	0%	0 / 20	0%
55		0 / 20	0%	0 / 20	0%
40		0 / 20	0%	0 / 20	0%

Conclusions - Commentaires		Essai valide ☐ oui - ☐ non	
A. Eau d'incubateur : Non toxique		Contrôle : < 10% immobilisés ☐	
		T : $20 \pm 2^\circ C$ ☐ Oxyg. > 4,0 mg/l ☐	
		pH : entre 6,8 et 8,5 ☐	
		Réf. $K_2Cr_2O_7$ [0,9 - 1,5 mg/l] 03/04/2012	
		$CE_{50-24h} = 1,07\text{ mg/l}$ [1,00 - 1,14 mg/l]	

**Soluval Santiago**

Analyses environnementales

Rue Edouard-Dubied 2 Tél: 032 863 43 60
CH - 2108 COUVET e-mail: ssantiago@bluewin.ch**Bioessais de toxicité****Récapitulation des résultats**

Brachionus calyciflorus (selon draft ISO 20666)		Organisme : <i>B. calyciflorus</i> (Rotoxkit F) Microplaque (1,0 ml); 4-8 répliques; 25±1°C; obscurité Dilution : <i>MHSW</i> (pH=7,6); nourriture : <i>Pk.sub.</i> + <i>Chl. sp.</i>						Date : 28 / 03 / 2012 Effectué par : SS Contrôlé par :	
Echantillon n°		Croissance de la population des rotifères Nombre de rotifères vivantes à 48 h. (N initial = 1)						Croissance	Inhibition
Concentration [%]		Répl. 1 : 5	Répl. 2 : 6	Répl. 3 : 7	Répl. 4 : 8	Moyenne	Ecart-type	(%)	(%)
Contrôle témoin		5 3	4 5	3 4	4 4	4.0	18.9%	100%	0%
<i>A. Eau</i>	90.0	2	6	3	6	4.3	48.5%	106%	-6%
<i>d'incubateur</i>	45.0	5	6	5	8	6.0	23.6%	150%	-50%
	22.5	6	7	8	7	7.0	11.7%	175%	-75%
	12.5	7	6	6	6	6.3	8.0%	156%	-56%
Remarques :									
Conclusions - Commentaires <i>A. Eau d'incubateur</i> : Non toxique (stimulation de la croissance aux basses concentrations)						Essai valide ☐ oui - ☐ non Contrôle : (N _{48h} / N _{0h}) ≥ 3 ☐ Reproduction pour minimum 7/8 répliques ☐ Réf. CuSO ₄ .5H ₂ O [80 - 340 ug/l] Date : 24/01/2012 CE ₅₀ -48h. = 95,8 ug/l [86,1 - 107 ug/l] ☐			
Microtox® <i>Vibrio fischeri</i> (selon ISO 11348-3)		Organisme : <i>V. fischeri</i> Microtox® (lot 10J1010) Conditions : T = 15 °C; expositions 5, 15 et 30 min. Dilution : <i>Microtox Diluent</i> (2% NaCl; pH=7,0)						Date : 27 / 03 / 2012 Effectué par : SS Contrôlé par :	
Echantillon n°		Luminescence I à T= 15 min.				Luminescence I à T= 30 min.			
Concentration [%]		I ₀	I _T	Lumin. (%)	Inhibition	I ₀	I _T	Lumin. (%)	Inhibition
Contrôle témoin (moy. n= 2)		99.9	98.4	100%	0%	99.9	94.9	100%	0%
<i>A. Eau</i>	83.3	a	89.3	105.1	119.3%	-21.6%	89.3	109.8	129.1%
		b	87.5	107.0	123.8%		87.5	108.7	130.4%
<i>d'incubateur</i>	66.7	a	87.0	109.0	127.0%	-24.2%	87.0	108.3	130.7%
		b	84.9	101.6	121.3%		84.9	101.4	125.5%
	50.0	a	80.7	103.8	130.5%	-28.8%	80.7	107.6	140.1%
		b	85.2	106.8	127.1%		85.2	107.7	132.8%
	33.3	a	95.5	100.3	106.4%	-9.1%	95.5	99.1	108.9%
		b	98.7	108.9	111.8%		98.7	109.9	116.9%
Remarques :									
Conclusions - Commentaires <i>A. Eau d'incubateur</i> : Non toxique (légère stimulation de la luminescence)						Essai valide ☐ oui - ☐ non Contrôle : (I _T / I ₀) ≥ 0,70 ☐ pH : entre 6,0 et 8,5 ☐ Réf. phénol [13 - 40 mg/l] Date : 27/03/2012 CE ₅₀ -15m. = 26,0 mg/l [23,5 - 28,7 mg/l] ☐			

Couvét, le 04 / 04 / 2012

Dr. S. Santiago

p. 2 / 3

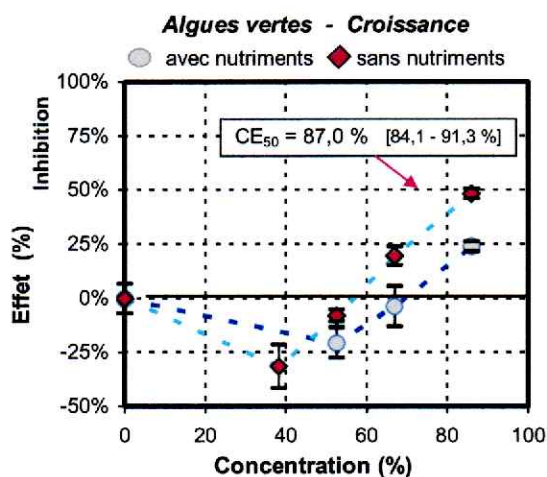


BIOCAT - JD CHOLLET

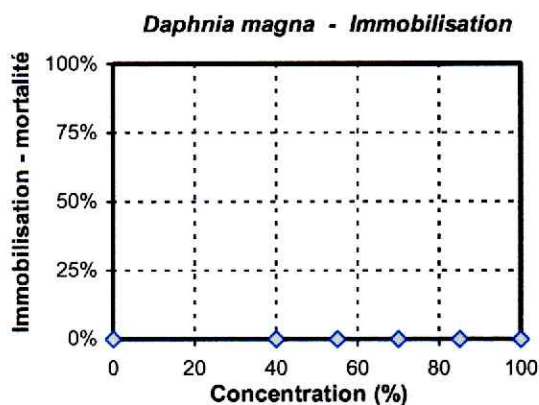
**A. Eau d'incubateur
(Culture d'archées)**

Mars 2012

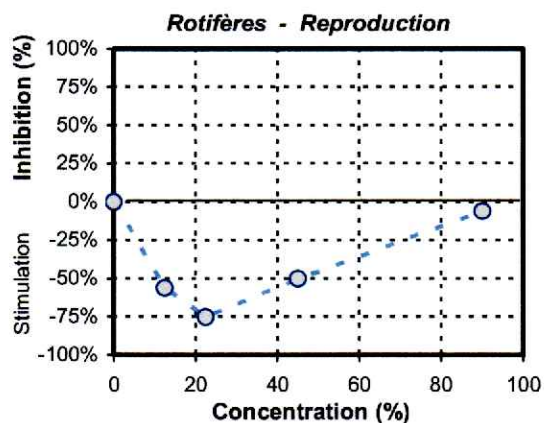
**Bioessai avec les algues vertes
*Pseudokirchneriella subcapitata***



**Bioessai avec les daphnies
*Daphnia magna***



**Bioessai avec les rotifères
*Brachionus calyciflorus***



**Bioessai avec les bactéries
*Vibrio fischeri***

