

Study Sponsor:	ELF ATOCHEM
Issue Date:	14-Dec-95
Document Reference No.:	95/SAEK/1372/AMP

[REDACTED]
Bacterial Growth Inhibition
Author(s): A.M. Petit H. Thiebaud

English Translation of Report Summary for
DuPont Chemical Solutions Enterprise
27-Jan-03

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

TECHNICAL SUMMARY

Determination of growth inhibition of *Pseudomonas putida* bacteria by [REDACTED] was effected using the operating procedure described in proposed standard ISO/DIS 10712 (cf. doc 118 Afnor T90B).

The method consists in exposing the bacteria for 16 hours to a range of concentrations of the substance being studied. The inhibiting effect observed on *Pseudomonas putida* is determined by comparing the cell growth at various dilutions of the substance with the cell growth obtained for a culture under the same conditions but which does not contain the test substance. The cell growth is determined by turbidimetry using a spectrophotometer.

The percent cell growth inhibition H is given by the relation :

$$H = ((B_k - B_n)/(B_k - B_0)) \times 100$$

where B_k and B_n are the turbidities, respectively, in the control and test flasks (after deduction of non-inoculated whites) and B₀ is the turbidity at t = 0 in the control flasks.

Under the test conditions [REDACTED] presents a :

CE₅₀ - 16 h = 140 mg/l, with a confidence interval at 95 % = 130 - 160 mg/l

and a

CE₁₀ - 16 h = 79 mg/l, with a confidence interval at 95 % = 67 - 90 mg/l

The reference substance, 3,5-dichlorophenol, has a CE₅₀ - 16 h equal to 14 mg/l and a CE₁₀ - 16 h equal to 6.6 mg/l

The validity criteria mentioning that the inoculum used in the control grew by at least a factor of 60X for the duration of the test was respected (growth factor = 216).

A. M. PETIT

H. THIEBAUD

Elf Atochem S.A.

DCRD

Centre d'Application de Levallois
Service Analyse Environnement

Levallois, le 14/12/95

Référence : 95/SAEk/1372/AMP
Séquentiel : 814020

20 DEC. 1995

RAPPORT D'ETUDE

TITRE : [REDACTED] DÉTERMINATION DE
L'INHIBITION DE LA CROISSANCE DES BACTÉRIES
PSEUDOMONAS PUTIDA

AUTEUR(S) : H. THIÉBAUD ; Coll. A.M. PETIT

RÉSUMÉ DOCUMENTAIRE :

Détermination de l'inhibition de la croissance des bactéries *Pseudomonas putida*
par [REDACTED] en suivant le mode opératoire décrit dans la méthode
du projet de norme ISO/DIS 10712 (cf. doc 118 Afnor T90 B).

MOTS CLES :

[REDACTED] Inhibition de la croissance des bactéries *Pseudomonas putida*;
ISO/DIS 10712

DESTINATAIRES : M. DEVAUX (DCFS)
DOC FICHIER TECH (M. TAISNE)

Copies : Chef de Service, Responsable des Archives,
Laboratoire d'écotoxicologie (copie coll.) ,
Secrétariat,
Service Écotoxicité et Sécurité des Produits (DSEP)

Company Sanitized. Does not contain TSCA CBI

RESUME TECHNIQUE

La détermination de l'inhibition de la croissance des bactéries *Pseudomonas putida* par le [REDACTED] a été réalisée en suivant le mode opératoire décrit dans le projet de norme ISO/DIS 10712 (cf. doc 118 Afnor T90 B).

La méthode consiste à exposer pendant 16 heures les bactéries à une gamme de concentrations de la substance étudiée. L'effet inhibiteur sur *Pseudomonas putida* est déterminé par comparaison de la croissance cellulaire des diverses dilutions de substance avec la croissance cellulaire obtenue pour une culture réalisée dans les mêmes conditions mais ne contenant pas de substance d'essai. La croissance des bactéries est mesurée par turbidimétrie avec un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition de la multiplication cellulaire, H, est donné par :

$$H = ((B_k - B_n)/(B_k - B_0)) \times 100$$

avec B_k et B_n, les turbidités respectivement dans les flacons témoins et dans les flacons d'essai (après déduction des blancs non inoculés) et B₀, la turbidité à t = 0 dans les flacons témoins.

Dans les conditions de l'étude [REDACTED] présente une :

CE_{50-16h} = 140 mg/l, avec un intervalle de confiance à 95 % égal à 130 - 160 mg/l,

et une

CE_{10-16h} = 79 mg/l, avec un intervalle de confiance à 95 % égal à 67 - 90 mg/l.

La substance de référence, le 3,5-dichlorophénol, présente une CE_{50-16h} égale à 14 mg/l et une CE_{10-16h} égale à 6,6 mg/l.

Le critère de validité mentionnant que l'inoculum utilisé dans le témoin s'est multiplié par au moins un facteur 60 pendant la durée de l'essai a été respecté (facteur de croissance = 216).

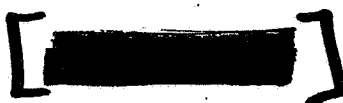
A. M. PETIT

H. THIÉBAUD

Company Sanitized. Does not contain TSCA cat

**ESSAI D'INHIBITION DE LA CROISSANCE
DE *PSEUDOMONAS PUTIDA***
(méthode décrite dans le projet de norme ISO/DIS 10712, cf. doc 118 Afnor T90 B)

Substance étudiée



Substance de référence

Nom : 3-5 DICHLOROPHENOL
Référence lot : ALDRICH

Demandeur de l'étude :

M. DEVAUX (DCFS)

Directeur de l'étude

H. THIEBAUD

Réalisation technique

A. M. PETIT

Date du début de l'essai

4/10/95

Date de la rédaction du rapport d'étude :

14/12/95

Préparation de l'échantillon :

Le jour de l'essai, une solution mère à 1g/l dans le milieu d'essai est préparée.

Mesures des pH

		pH en début d'essai	pH en fin d'essai
Concentration	0 mg/l	6,01	6,43
	308 mg/l	7	7,66

Organisme test

Pseudomonas putida : Institut PASTEUR 103281

Matériel

Verrerie stérilisée (Erlens de 50 ml)
Spectrophotomètre Perkin - Elmer lambda 5
Agitateur thermostaté 21°C +/- 1°C

Gamme de concentrations :

	Volume (ml)					
Solution mère ou solution mère diluée de la substance (facteur de dilution entre parenthèses)	3,08	2,2	1,47	1,05	0,75	0
Eau	4,92	5,80	6,53	6,95	7,25	8
Milieu d'essai	1	1	1	1	1	1
Inoculum	1	1	1	1	1	1
	Concentration (mg/l)					
	308	220	147	105	75	0

Company Sanitized. Does not contain TSCA 001

Company Sanitized. Does not contain TSCA 1