

# ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation  
de l'accréditation, de la sécurité et qualité  
des produits et services

## ILNAS-EN 17805:2023

### **Qualité de l'eau - Échantillonnage, collecte et conservation de l'ADN environnemental prélevé dans l'eau**

Water quality - Sampling, capture and  
preservation of environmental DNA from  
water

Wasserbeschaffenheit - Probenahme,  
Erfassung und Konservierung von  
Umwelt DNA in Wasser

03/2023

A decorative graphic in the bottom right corner featuring several interlocking gears in shades of blue and yellow. Overlaid on the gears is binary code (0s and 1s) and mathematical symbols like plus and minus signs. The background has a subtle grid pattern.

## Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 17805:2023 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 17805:2023.

Toute personne intéressée, membre d'une organisation basée au Luxembourg, peut participer gratuitement à l'élaboration de normes luxembourgeoises (ILNAS), européennes (CEN, CENELEC) et internationales (ISO, IEC) :

- Influencer et participer à la conception de normes
- Anticiper les développements futurs
- Participer aux réunions des comités techniques

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

### **CETTE PUBLICATION EST PROTÉGÉE PAR LE DROIT D'AUTEUR**

Aucun contenu de la présente publication ne peut être reproduit ou utilisé sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit - électronique, mécanique, photocopie ou par d'autres moyens sans autorisation préalable !

Version Française

## Qualité de l'eau - Échantillonnage, collecte et conservation de l'ADN environnemental prélevé dans l'eau

Wasserbeschaffenheit - Probenahme, Erfassung und  
Konservierung von Umwelt-DNA in Wasser

Water quality - Sampling, capture and preservation of  
environmental DNA from water

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 30 janvier 2023.

Les membres du CEN sont tenus de se soumettre au Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, qui définit les conditions dans lesquelles doit être attribué, sans modification, le statut de norme nationale à la Norme européenne. Les listes mises à jour et les références bibliographiques relatives à ces normes nationales peuvent être obtenues auprès du Centre de Gestion du CEN-CENELEC ou auprès des membres du CEN.

La présente Norme européenne existe en trois versions officielles (allemand, anglais, français). Une version dans une autre langue faite par traduction sous la responsabilité d'un membre du CEN dans sa langue nationale et notifiée au Centre de Gestion du CEN-CENELEC, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République de Serbie, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.



COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION  
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG  
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION

CEN-CENELEC Management Centre: Rue de la Science 23, B-1040 Bruxelles

<b>Sommaire</b>		Page
<b>Avant-propos européen .....</b>		<b>3</b>
<b>Introduction .....</b>		<b>4</b>
<b>1</b>	<b>Domaine d'application .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Références normatives .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Termes et définitions.....</b>	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>Principe.....</b>	<b>7</b>
<b>5</b>	<b>Mode opératoire.....</b>	<b>8</b>
<b>5.1</b>	<b>Généralités.....</b>	<b>8</b>
<b>5.2</b>	<b>Éléments à prendre en compte avant le travail sur site.....</b>	<b>8</b>
<b>5.3</b>	<b>Préparation de l'équipement avant le travail sur site.....</b>	<b>8</b>
<b>5.4</b>	<b>Échantillonnage de l'ADNe dans l'eau.....</b>	<b>9</b>
<b>5.5</b>	<b>Conservation de l'échantillon .....</b>	<b>9</b>
<b>6</b>	<b>Équipement .....</b>	<b>10</b>
<b>7</b>	<b>Solutions de conservation.....</b>	<b>12</b>
<b>7.1</b>	<b>Généralités.....</b>	<b>12</b>
<b>7.2</b>	<b>Exemples de solutions de conservation.....</b>	<b>12</b>
<b>8</b>	<b>Rapport d'échantillonnage .....</b>	<b>12</b>
<b>8.1</b>	<b>Généralités.....</b>	<b>12</b>
<b>8.2</b>	<b>Identité et caractéristiques de l'échantillon .....</b>	<b>12</b>
<b>8.3</b>	<b>Site d'échantillonnage .....</b>	<b>13</b>
<b>8.4</b>	<b>Conditions d'échantillonnage .....</b>	<b>13</b>
<b>8.5</b>	<b>Échantillonnage .....</b>	<b>13</b>
<b>9</b>	<b>Prévention de la contamination des échantillons.....</b>	<b>14</b>
<b>9.1</b>	<b>Généralités.....</b>	<b>14</b>
<b>9.2</b>	<b>Contamination introduite par l'équipement.....</b>	<b>14</b>
<b>9.3</b>	<b>Mode opératoire de décontamination de l'équipement d'échantillonnage.....</b>	<b>15</b>
<b>Annexe A (informative) Types de filtres .....</b>		<b>16</b>
<b>Bibliographie .....</b>		<b>17</b>

## Avant-propos européen

Le présent document (EN 17805:2023) a été élaboré par le comité technique CEN/TC 230 « Analyse de l'eau », dont le secrétariat est tenu par DIN.

Cette Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en septembre 2023, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en septembre 2023.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété autres que ceux qui sont mentionnés ci-dessus. Le CEN ne saurait être tenu pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information et toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve sur le site web du CEN.

Selon le Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, les instituts de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie

## Introduction

**AVERTISSEMENT — Il convient que les personnes utilisant le présent document connaissent les protocoles d'échantillonnage de l'eau pour évaluer la diversité biologique. Le présent document 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 d'hygiène et de sécurité appropriées.**

**De plus, le besoin de notification, d'obtention de certificats ou de permis avant l'échantillonnage, selon les lois et réglementations nationales ou internationales telles que le Protocole de Nagoya sur l'accès aux ressources génétiques (<https://www.cbd.int/abs/>), doit être pris en compte.**

La surveillance des organismes est essentielle pour évaluer l'état des écosystèmes aquatiques et est requise par la législation nationale et internationale telle que la directive-cadre sur l'eau de l'Union européenne (2000/60/CE). Plusieurs méthodes de surveillance des organismes dans les milieux aquatiques ont été décrites, ce qui a conduit à l'élaboration d'une vaste gamme de Normes européennes (par exemple EN 14011:2003, EN 14757:2015, EN 15460:2007). Toutefois, ces approches nécessitent de capturer et/ou collecter les organismes concernés, ce qui peut être un processus laborieux et chronophage.

La possibilité de détecter la présence d'organismes et/ou de quantifier l'abondance relative (par exemple [6]) dans les milieux aquatiques par l'analyse de l'ADN environnemental (ADNe) offre un nouveau moyen de surveiller la biodiversité dans divers groupes taxonomiques, notamment les micro-organismes, les plantes et les animaux ([7][8][9]). Cette approche permet d'étudier la diversité en organismes sans avoir besoin de directement isoler et capturer des organismes. De plus, elle est censée jouer un rôle majeur dans la biosurveillance future, avec pour objectif d'inventorier des espèces avec une haute résolution temporelle et spatiale [10]. Bien que la performance de l'approche ADNe ait été rapportée à plusieurs reprises [11], il est fortement nécessaire de standardiser l'application de l'évaluation de la biodiversité aquatique fondée sur l'ADNe ([12], [13]). Il faut cependant noter que la biosurveillance fondée sur l'ADNe ne permet pas d'obtenir certains paramètres de la population (par exemple, taille des individus, sexe) qui peuvent être obtenus avec des techniques d'échantillonnage classiques.

Le présent document fournit des recommandations sur la façon de collecter et de conserver l'ADNe d'échantillons d'eau, abordant la première étape, cruciale, pour les analyses ultérieures de la biodiversité fondées sur l'ADNe. Un rapport technique spécifique pour l'échantillonnage en routine de diatomées benthiques dans les rivières et les plans d'eau adapté pour les analyses en metabarcoding, est le CEN/TR 17245:2018.

## 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des modes opératoires d'échantillonnage, de capture et de conservation de l'ADN environnemental (ADNe) dans des milieux aquatiques, provenant d'organismes qui sont ou qui ont été récemment présents dans une masse d'eau, qui l'ont parcouru ou dont l'ADN a été introduit dans la masse d'eau par un mécanisme précis. Le présent document porte également sur les modes opératoires permettant d'éviter la contamination des échantillons et de contrôler la qualité de l'ADN, les principales propriétés du mode opératoire et de l'équipement de filtration et les normes relatives au compte rendu

Le présent document n'inclut pas la collecte d'ADNe de biofilms, sédiments ou autres types d'échantillons similaires et n'aborde pas la question des plans d'échantillonnage.

## 2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

## 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 en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform : disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

### 3.1

#### **contamination croisée**

transfert imprévu de toute source et/ou d'ADN d'un échantillon à un autre

### 3.2

#### **décontamination**

mode opératoire consistant à éliminer toute source et/ou trace d'ADN du matériel pouvant entrer en contact avec l'échantillon

### 3.3

#### **filtre fermé**

dispositif de filtration dans lequel la membrane filtrante est intégrée et dans lequel l'orifice d'entrée et l'orifice de sortie peuvent être fermés pendant le transport et le stockage

Note 1 à l'article L'ADNe contenu sur le filtre est généralement extrait sans enlever la membrane de la cartouche filtrante, ce qui réduit nettement le risque de contamination des échantillons. Voir Figure A.1 C. à l'Annexe A.

### 3.4

#### **ADN environnemental**

#### **ADNe**

matériel provenant d'organismes morts ou vivants et comprenant des fragments d'ADN simple brin (sb) ou double brin (db) provenant d'ADN nucléaire et mitochondrial/plastidial d'eucaryotes ainsi que d'ADN plasmidique de procaryotes

Note 1 à l'article Est inclus l'ADN de diverses sources telles que les organismes unicellulaires et les petits organismes multicellulaires ou les particules de tissus (par exemple, cellules désagrégées, matières fécales) et les gamètes d'organismes multicellulaires.

### 3.5

#### **blanc d'équipement de terrain**

échantillon obtenu par traitement d'eau exempte d'ADN cible (par exemple, eau distillée) dans l'ensemble de l'équipement utilisé et couvrant tous les modes opératoires impliqués dans le processus d'échantillonnage d'ADNe pour pouvoir vérifier que l'équipement et les modes opératoires n'introduisent pas de contamination

### 3.6

#### **filtre enclavé**

système dans lequel une membrane filtrante est protégée à l'intérieur d'un boîtier solide pendant le processus de filtration

Note 1 à l'article Les filtres sont retirés du boîtier pendant l'extraction de l'ADNe. Le boîtier peut être ouvert et le filtre retiré en vue du stockage et d'un traitement ultérieur. Voir Figure A.1 B. à l'Annexe A.

### 3.7

#### **tampon de lyse**

solution tampon servant à conserver l'ADN présent dans l'échantillon et à lyser/ouvrir les cellules comme première étape de l'extraction de l'ADN

### 3.8

#### **témoin interne positif**

##### **TIP**

fragment connu d'ADN synthétique ou naturel contenant une séquence amplifiable et quantifiable qui ne sera pas naturellement présente dans l'échantillon

Note 1 à l'article Le TIP peut être ajouté à l'échantillon ou au tampon de conservation/lyse à une concentration connue pour vérifier l'efficacité de conservation, d'extraction, d'amplification et d'identification de l'ADN.

### 3.9

#### **filtre ouvert**

dispositif de filtration, y compris les colonnes de filtration (laboratoire) et les sacs à dos de filtration, duquel la membrane filtrante doit être retirée à la main pour un traitement ultérieur

Note 1 à l'article Voir Figure A.1 A. à l'Annexe A.

### 3.10

#### **pré-filtre**

membrane filtrante, maille ou crépine ayant une taille de pore supérieure à celle de la membrane du filtre principal (pour capturer l'ADNe) à travers laquelle de l'eau est introduite d'abord pour éliminer les grosses particules de sédiment, de matière végétale ou d'algues, pour augmenter le volume d'eau qui peut être filtré avant saturation du filtre principal

### 3.11

#### **contamination de l'échantillon**

processus par lequel de l'ADN exogène est accidentellement introduit dans l'échantillon pendant l'échantillonnage

Note 1 à l'article L'ADN déjà présent dans l'eau avant l'échantillonnage de l'ADNe n'est pas considéré comme une source de contamination.

### 3.12

#### **ADN cible**

toute source et/ou trace d'ADN provenant de l'espèce/du taxon étudié