

ILNAS

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

ILNAS-EN 15204:2006

Qualité de l'eau - Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl)

Water quality - Guidance standard on the
enumeration of phytoplankton using
inverted microscopy (Utermöhl
technique)

Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die
Zählung von Phytoplankton mittels der
Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)

08/2006



Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 15204:2006 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 15204:2006.

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 !

ICS 13.060.70

Version Française

Qualité de l'eau - Norme guide pour le dénombrement du phytoplancton par microscopie inversée (méthode Utermöhl)

Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl-Technik)

Water quality - Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique)

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 14 juillet 2006.

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 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, a le même statut que les versions officielles.

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



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

Centre de Gestion: rue de Stassart, 36 B-1050 Bruxelles

Sommaire

Page

Avant-propos.....	3
Introduction	4
1 Domaine d'application	5
2 Références normatives	5
3 Termes et définitions	5
4 Principe	7
5 Matériel et conservateurs	7
5.1 Flacons d'échantillonnage	7
5.2 Chambre de sédimentation	7
5.3 Microscope inversé	8
5.4 Conservateurs	8
6 Traitement des échantillons	9
6.1 Généralités	9
6.2 Conservation des échantillons	9
6.3 Stockage	9
6.4 Atteinte de l'équilibre thermique	10
6.5 Homogénéisation de l'échantillon	10
6.6 Préparation du sous-échantillon	11
6.7 Densité des algues	13
7 Mode opératoire de comptage	13
7.1 Généralités	13
7.2 Étude préliminaire (qualitative)	13
7.3 Analyse quantitative	14
7.4 Identification	19
8 Validation quantitative	19
8.1 Généralités	19
8.2 Validation de l'homogénéisation	20
8.3 Validation de la préparation du sous-échantillon	20
8.4 Répétabilité et reproductibilité	21
9 Incertitude de mesure	21
9.1 Généralités	21
9.2 Incertitude qualitative	21
9.3 Incertitude quantitative	22
Annexe A (informative) Propriétés optiques des microscopes inversés	23
Annexe B (informative) Traitement des échantillons	25
Annexe C (informative) Stratégies d'analyse du phytoplancton	30
Annexe D (informative) Identification	33
Annexe E (informative) Utilisation de microscopes composés classiques	34
Annexe F (informative) Méthode statistique	38
Bibliographie	44

Avant-propos

Le présent document (EN 15204:2006) 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 Février 2007, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en Février 2007.

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, Chypre, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède et Suisse.

Introduction

La publication de la Directive européenne Cadre sur l'eau (2000/60/CE) a fait ressentir le besoin d'un mode opératoire uniforme permettant d'évaluer la qualité écologique des eaux de surface par l'abondance et la composition du phytoplancton. La présente Norme européenne répond à cette demande et aide les laboratoires à améliorer la qualité des résultats d'analyse.

Il n'est pas possible de fournir un seul mode opératoire normalisé pour l'évaluation de la composition et de l'abondance du phytoplancton, étant donné que les programmes de surveillance sous-jacents sont de caractères divers et exigent par conséquent des protocoles spécifiques. Par conséquent, l'objectif de la présente Norme européenne est de fournir des lignes directrices sur les aspects de base des analyses d'algues microscopiques et d'indiquer des modes opératoires statistiques pour la conception, l'optimisation et la validation de méthodes et de protocoles. Cette norme n'inclut pas de méthode pour l'estimation du biovolume, bien que celle-ci soit mentionnée dans l'Annexe C.

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur de la présente Norme européenne connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. L'analyse microscopique du phytoplancton pendant de longues durées peut engendrer de la fatigue physique et influencer sur la vue. Il convient de prêter attention aux caractéristiques ergonomiques du microscope et de demander conseil à un spécialiste de l'hygiène et de la sécurité pour s'assurer que les risques sont réduits le plus possible. L'emploi des produits chimiques mentionnés dans la présente Norme européenne peut être dangereux, c'est pourquoi il est conseillé aux utilisateurs de suivre les recommandations données par les fabricants et de demander conseil aux spécialistes.

La présente Norme européenne 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 de la présente norme de mettre en place des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer de la conformité aux recommandations de la réglementation nationale en vigueur.

1 Domaine d'application

Le mode opératoire décrit dans la présente Norme européenne est fondé sur la technique de sédimentation classique telle que définie par Utermöhl en 1958 [31]. Il s'agit d'un mode opératoire général pour l'estimation de l'abondance et de la composition taxinomique du phytoplancton marin et d'eau douce à l'aide d'un microscope inversé et de chambres de sédimentation, y compris les étapes préalables de conservation et de stockage. L'accent est mis sur l'optimisation du mode opératoire pour la préparation de l'échantillon microscopique. Un grand nombre de principes généraux de l'approche décrite, dont certains sont mentionnés dans l'Annexe E, peuvent aussi s'appliquer à d'autres techniques de dénombrement d'algues (ou d'autres entités) à l'aide d'un microscope (classique). La présente norme guide ne concerne pas la collecte d'échantillons sur le terrain, l'analyse du picoplancton, l'analyse quantitative d'amas flottants de cyanobactéries, ou les techniques spécifiques pour la préparation des diatomées.

2 Références normatives

Non applicable.

3 Termes et définitions

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

3.1

précision

étroitesse de l'accord entre un résultat d'essai ou un mesurage et la valeur vraie

3.2

objet algal

unité/groupe d'une ou plusieurs cellules d'algues, rencontré(e) lors de l'analyse du phytoplancton, qui est indépendant(e) (peut sédimenter de manière indépendante) des autres particules de l'échantillon

3.3

seuil de détection

nombre et/ou taille minimum d'un taxon ou groupe d'organismes spécifique dans un échantillon, qui permet que celui-ci soit détecté avec une probabilité spécifiée

NOTE Cette définition est analogue à celle utilisée en chimie (plus petite valeur vraie du mesurage détectable par la méthode de mesure).

3.4

erreur

différence entre un résultat individuel et la valeur vraie

3.5

fixation

protection contre la désintégration de la structure morphologique des organismes

3.6

champ de comptage du microscope

zone délimitée (par exemple un carré ou une grille) dans le champ de vision de l'objectif du microscope, utilisée pour le dénombrement

3.7

nanoplancton

algues de petite taille, comprise entre 2 µm et 20 µm

3.8
ouverture numérique (ON)
différence de l'indice de réfraction du milieu entre l'objectif et l'objet, multipliée par le sinus de la moitié de l'angle de la lumière incidente

3.9
caractéristique de performance
caractéristique d'un protocole d'analyse spécifique qui englobe les aspects qualitatifs et quantitatifs pour la fidélité des données, le biais, la sensibilité de la méthode et la plage des conditions pour lesquelles une méthode permet d'obtenir des données satisfaisantes

3.10
phytoplancton
communauté d'organismes libres en suspension principalement photosynthétiques dans les systèmes aquatiques, comprenant les cyanobactéries et les algues

3.11
picoplancton
algues de très petite taille, comprise entre 0,2 µm et 2 µm

3.12
fidélité
étroitesse de l'accord entre des résultats de mesurage/d'essai indépendants obtenus dans des conditions précisées

3.13
conservation
processus qui protège les substances organiques contre la décomposition

3.14
protocole (d'analyse)
mode opératoire analytique spécifique concernant le volume de l'échantillon ou du sous-échantillon, le grossissement, le nombre de cellules à compter, le niveau taxinomique pour l'identification, etc.

3.15
répétabilité
fidélité dans des conditions de répétabilité

3.16
conditions de répétabilité
conditions dans lesquelles des résultats de mesurage/d'essai indépendants sont obtenus en utilisant la même méthode sur des éléments de mesurage/d'essai identiques, dans la même installation de mesurage ou d'essai, par le même opérateur à l'aide du même équipement dans des intervalles de temps très courts

NOTE Il convient d'interpréter cette définition comme une erreur survenant entre des réplicats de sous-échantillonnage du même échantillon, comptés dans la même chambre de comptage, effectués par un analyste utilisant un microscope au cours d'une série continue dans une même journée.

3.17
reproductibilité
fidélité dans des conditions de reproductibilité

3.18
conditions de reproductibilité
conditions dans lesquelles des résultats de mesurage/d'essai indépendants sont obtenus en utilisant la même méthode sur des éléments de mesurage/d'essai identiques, dans des installations de mesurage ou d'essai différentes, par des opérateurs différents à l'aide d'équipements différents