

Recommandations techniques

*Opérations d'analyse physico-chimique
du biote en milieu continental
dans le cadre des programmes de surveillance DCE*

Contexte de programmation et de réalisation

Ce guide a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF 2016-2018, thème D « Amélioration des opérations d'analyse physico-chimique » - Action D2a2 – guide pour l'élaboration des spécifications techniques pour la surveillance des milieux aquatiques - Opérations d'analyse physico-chimique du biote en milieu continental dans le cadre des programmes de la surveillance de la DCE.

Auteurs

Azziz Assoumani, INERIS
Marina Coquery, Irstea
Sophie Lardy-Fontan, LNE
François Lestremau, INERIS

Guide rédigé avec la contribution de

Marc Babut, Irstea
Olivier Geffard, Irstea
Anne Grouhel, IFREMER
Béatrice Lalère, LNE
Nathalie Marescaux, INERIS

Contact principal

François Lestremau (francois.lestremau@ineris.fr)

Référence du document

AQUAREF - Opérations d'analyse physico-chimique du biote en milieu continental dans le cadre des programmes de surveillance DCE - Recommandations techniques – Edition 2017

Droits d'usage

Accès public

Avec le soutien de :
**AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ**
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT



TABLE DES MATIÈRES

1	Généralités	7
2	Qualification, habilitation du personnel	8
3	Démarche qualité	8
4	Responsabilités du laboratoire en charge des analyses en matière d'échantillonnage	9
4.1	Responsabilité organisationnelle	9
4.2	Matériel à la charge du laboratoire et consignes associées	10
4.2.1	Matériel spécifique au conditionnement et transport des poissons	10
4.2.2	Matériel spécifique au conditionnement et transport des gammares	12
5	Conditionnement et transport	12
5.1	Poissons	12
5.2	Gammares	13
6	Responsabilités du laboratoire en charge des analyses en matière de réception des échantillons	13
6.1	Contrôles à réception - matrice poissons	13
6.2	Contrôles à réception - gammares	14
6.3	Prise en charge des échantillons	14
6.3.1	Poissons	14
6.3.2	Gammares	15
7	Analyse	15
7.1	Responsabilité du laboratoire en charge des analyses	15
7.2	Recommandations vis-à-vis des risques de contamination	16
7.3	Recommandations pour l'analyse du biote	17
7.3.1	Pré-traitement des échantillons	17
7.3.1.1	Poissons	17
7.3.1.2	Gammares	21
7.3.2	Stockage des échantillons	22
7.3.3	Caractérisation du taux (%) de matière sèche	23
7.3.4	Détermination du taux de lipides	23
7.3.5	Détermination de la teneur en carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$	24
7.4	Méthodes analytiques	24
7.4.1	Guides pour les méthodes analytiques	24
7.4.2	Valeurs guides pour les LQ	25
7.5	Analyses de confirmation	26
8	Expression des résultats et métadonnées	27
8.1	Résultats analytiques	27
8.1.1	Rendu des résultats pour le biote	27
8.1.2	Expression des résultats	28

8.2	Validation des résultats avant transmission	28
9	Références	31
10	Liste des annexes	34

Préambule

Les guides AQUAREF regroupent les recommandations techniques d'AQUAREF pour la réalisation des opérations d'échantillonnage et d'analyse dans les programmes de surveillance chimique liés à la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et la directive-cadre « stratégie pour le milieu marin » (DCSMM). Ils portent sur les eaux superficielles (eau, sédiment, biote) continentales et marines, les eaux souterraines et les eaux résiduaires urbaines et industrielles. Ils intègrent les dispositions de l'arrêté « surveillance » du 7 août 2015, de l'arrêté « agrément des laboratoires » du 27 octobre 2011, de l'avis « limites de quantification » du 8 novembre 2015, et les textes relatifs à la surveillance des eaux résiduaires. Ils peuvent également être utilisés dans d'autres contextes de surveillance ou de diagnostic des milieux.

Les guides AQUAREF s'adressent aux organismes d'échantillonnage et d'analyse ainsi qu'aux demandeurs (maîtres d'ouvrages de prestations) qui pourront utiliser les recommandations techniques pour élaborer leurs cahiers des charges.

Les recommandations techniques formulées sont basées sur l'état de l'art disponible à la date de rédaction, dont les retours d'expériences et les résultats des études AQUAREF. Elles visent à concilier l'objectif de fiabilité des données et la faisabilité opérationnelle de mise en œuvre.

Les termes « recommande », « doit » ou « recommandation » utilisés dans les guides AQUAREF indiquent que les pratiques décrites sont indispensables pour la qualité des données in fine. Des pratiques alternatives peuvent être mises en œuvre s'il est démontré que celles-ci conduisent à des résultats équivalents à la pratique recommandée. Les termes « propose » ou « proposition » sont utilisés pour des préconisations complémentaires, non indispensables, visant à répondre à des exigences qualitatives accrues/renforcées.

Pour les dispositions techniques non indiquées dans ses guides, AQUAREF recommande de s'appuyer sur les normes et documents techniques de référence en vigueur.

Certaines données techniques concernant les substances intégrées récemment dans les programmes de surveillance (arrêté du 7 août 2015), ne sont pas disponibles ou consolidées. Pour ces substances, les recommandations d'AQUAREF sont basées sur les bonnes pratiques génériques et sont susceptibles d'évoluer.

Les guides AQUAREF n'ont pas de valeur réglementaire. Leur utilisation, intégrale ou partielle, est faite sous la seule et entière responsabilité de l'utilisateur.

Les concepts et les définitions nécessaires à la lecture des guides sont regroupés dans un document unique « Opérations d'échantillonnages et d'analyses physico-chimiques pour la surveillance des milieux aquatiques – Définitions ».

http://www.aquaref.fr/system/files/Definitions_echantillonnage_analyse_VF.pdf

Les codes SANDRE indiqués sont applicables à la date de publication, mais susceptibles d'évolution ultérieure. Il appartient à l'utilisateur de vérifier leur actualisation :

<http://www.sandre.eaufrance.fr/Rechercher-une-donnee-d-un-jeu>.

Chaque guide est référencé par son année de mise à jour. La dernière version annule et remplace les versions précédentes.

Guides AQUAREF disponibles :

<http://www.aquaref.fr/guide-recommandations-techniques-aquaref>

Guides échantillonnage « milieu »

- Guide des opérations d'échantillonnage d'eau en eau souterraine
- Guide des opérations d'échantillonnage d'eau en cours d'eau
- Guide des opérations d'échantillonnage d'eau en plan d'eau
- Guide des opérations d'échantillonnage de sédiments en milieu continental
- Guide des opérations d'échantillonnage en milieu marin (eau, sédiment, biote)

Guide conditionnement transport « biote »

- Guide conditionnement et transport des échantillons biote (poisson) en milieu continental (cours d'eau - plan d'eau)

Guides analyse « milieu »

- Guide des opérations d'analyse physico-chimique des eaux et des sédiments en milieu continental
- Guide des opérations d'analyse physico-chimique du biote en milieu continental

Spécificité DROM

- Opérations d'échantillonnage d'eau pour la surveillance des milieux aquatiques - Module spécifique DROM

Eaux résiduaires

- Guide technique opérationnel des pratiques d'échantillonnage et de conditionnement en vue de la recherche de micropolluants prioritaires et émergents en assainissement collectif et industriel

1 Généralités

La stratégie nationale de surveillance des contaminants chimiques dans le biote des eaux de surface continentales et eaux littorales est définie par le Ministère de la transition écologique et solidaire dans la note technique du 26 décembre 2017 et la note de cadrage méthodologique de l'Agence française pour la biodiversité (AFB) portant sur la mise en œuvre des NQE applicables dans le biote dans les eaux de surface continentales et les eaux littorales de métropole [AFB].

Le présent guide formule différentes recommandations en matière d'opérations d'analyse du biote : poisson (code sandre support 4) et crustacé amphipode dulçaquicole du genre *Gammarus* (gammare – code sandre support 81) dans les eaux de surfaces continentales (métropole). Ce guide n'aborde pas les spécificités des départements et régions d'outre-mer (DROM). Il peut être appliqué dans le cadre d'une analyse réglementaire et dans une optique d'étude prospective.

Pour le poisson, la surveillance réglementaire est mise en œuvre par opération de pêche (code sandre appellation de taxons) :

- dans les cours d'eau, sur les espèces suivantes : chevaine (CHE - *Squalius cephalus* - code sandre 31041), barbeau fluviatile (BAF - *Barbus barbus* - code sandre 2096), gardon (GAR - *Rutilus rutilus* - code sandre 2133), brème commune (BRE - *Abramis brama* - code sandre 2086), et perche (PER - *Perca fluviatilis* - code sandre 2193),
- dans les plans d'eau, sur les mêmes espèces que pour les cours d'eau auxquelles s'ajoute la truite (TRF - *Salmo trutta* - code sandre 43698).

Pour les crustacés, la surveillance réglementaire est mise en œuvre par biosurveillance active de gammare (en particulier les espèces : *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum*). Il s'agit de la mesure de la bioaccumulation des substances recherchées dans les gammare exposés directement par encagement dans le milieu récepteur. Pour les gammare, un échantillon comprend un pool d'individus constitué par l'organisme d'échantillonnage.

Comme pour l'échantillonnage, la bonne pratique de l'analyse conditionne en très grande partie la fiabilité, la comparabilité des données de mesure et donc l'interprétation que l'on pourra en faire. Il est donc indispensable de prendre toutes les dispositions pour assurer la représentativité des échantillons lors du processus d'analyse au laboratoire depuis leur prise en charge jusqu'au rendu des résultats.

Une bonne coordination entre l'organisme d'échantillonnage et le laboratoire en charge des analyses est indispensable pour la qualité des données notamment pour les étapes suivantes : respect des délais échantillonnage-analyse, respect des consignes relatives au conditionnement, conservation, transport, ... Les indications relatives à l'échantillonnage de la matrice biote (poisson) sont disponibles dans le guide AQUAREF correspondant : « **Guide échantillonnage : Conditionnement et transport des échantillons biote (poisson) en milieu continental (cours d'eau) dans le cadre de la surveillance chimique des programmes DCE** » [AQUAREF, 2017].

Dans le cadre de l'analyse des gammare, la responsabilité du laboratoire en charge des analyses débute au moment où les organismes triés parviennent au laboratoire.

En raison de la diversité des opérations d'analyses, le présent guide ne peut prétendre à un caractère exhaustif. AQUAREF recommande que les opérateurs d'analyses prennent comme référence les normes et guides en vigueur pour les dispositions non indiquées dans ce guide, notamment relatives à l'évaluation des performances des méthodes analytiques :

- la norme NF T90-210 (2009) « Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire » ;

ou

la norme NF V 03-110 (2010) « Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude » ;

- la norme NF ISO 11352 (2013) « Qualité de l'eau - Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité ;

Le suivi en routine des méthodes développées doit être considéré par le laboratoire en charge des analyses selon les références suivantes :

- la norme XP T 90-214 « Qualité de l'eau - Caractérisation d'une méthode - Critères pour l'évaluation d'une méthode d'analyse pour la détermination de composés organiques multi-classes par spectrométrie de masse ».
- le guide SANTE/11813/2017 « Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed »

Certains codes Sandre pour des paramètres spécifiques demandés ne sont pas disponibles au moment de la rédaction de ce guide et sont en cours de création par le groupe de travail ad-hoc du Sandre.

2 Qualification, habilitation du personnel

Les opérateurs d'analyses doivent être qualifiés et habilités par leur organisme d'appartenance.

La levée des filets de poisson est une étape critique du processus analytique. Afin de préserver la fiabilité de l'analyse, les opérateurs en charge de cette étape doivent être sensibilisés sur l'importance et sur les risques potentiels, par exemple des contaminations qui peuvent occasionner des biais sur les résultats. Par conséquent, la levée des filets de poisson doit être effectuée par une personne ayant l'habilitation pour cette activité ou pouvant justifier de cette compétence.

Dans le cas d'une utilisation liée à une relation contractuelle entre un demandeur et un prestataire, AQUAREF recommande que le prestataire apporte la preuve de la lecture de ce document et de tout autre document technique de référence attaché au programme de surveillance concerné (attestation de lecture par exemple).

3 Démarche qualité

Le demandeur s'assure que le laboratoire en charge des analyses applique un système de gestion de la qualité conforme à la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou à toute autre norme équivalente reconnue à l'échelle internationale (l'équivalence éventuelle est à justifier par le laboratoire en charge des analyses). L'accréditation par un organisme national d'accréditation répond à cette exigence.

Si les substances entrent dans le champ de l'agrément, le laboratoire en charge des analyses et ses éventuels sous-traitants doivent disposer de cet agrément.

Dans le cas où, pour une substance donnée, le laboratoire en charge des analyses se réclame d'un système d'assurance qualité (accréditation par exemple), les résultats pour cette substance doivent, sauf exception dûment justifiée et acceptée par le demandeur, être remis sous couvert de ce système qualité.

Dans son offre remise au demandeur, le laboratoire devra préciser les critères d'exception qui conduisent à la remise d'un résultat hors accréditation (délais de réception, température, ...).

Le laboratoire en charge des analyses met en œuvre, pour chaque méthode, les contrôles nécessaires permettant d'assurer la fiabilité des résultats (participation à des comparaisons inter-laboratoires, utilisation de matériaux de référence certifiés, ajouts dosés, étalons marqués, cartes de contrôle, blancs de méthode et doubles analytiques, ...).

Le laboratoire en charge des analyses doit, en concertation avec l'organisme d'échantillonnage, organiser les contrôles qualité liés aux opérations d'échantillonnage. Il a la charge de fournir l'ensemble des consignes et matériels nécessaires à leur réalisation.

Le laboratoire en charge des analyses rédige un plan d'assurance qualité. Ce document précise notamment les moyens que l'organisme (ainsi que sous-traitant et co-traitant) met à disposition pour assurer la réalisation des analyses dans les meilleures conditions et la responsabilité des différentes parties. Il liste notamment les documents de référence à respecter et propose un synoptique des organismes intervenants en précisant leur rôle et responsabilité dans le processus. Le plan d'assurance qualité détaille également les modalités de mise en œuvre des présentes recommandations techniques qui ne seraient pas prises en compte par le système d'assurance qualité du laboratoire en charge des analyses.

La traçabilité documentaire des opérations doit être assurée à toutes les étapes de la préparation de la campagne jusqu'à la restitution des données.

4 Responsabilités du laboratoire en charge des analyses en matière d'échantillonnage

4.1 Responsabilité organisationnelle

La préparation de la campagne d'échantillonnage doit faire l'objet d'un dialogue étroit entre l'organisme d'échantillonnage, du conditionnement et du transport des échantillons biologiques et le laboratoire en charge des analyses afin de disposer des informations et matériels appropriés suffisamment en amont de la campagne. Le laboratoire en charge des analyses doit organiser l'acheminement des échantillons dans les conditions et délais nécessaires à leur préservation jusqu'à l'analyse.

Un responsable chargé d'assurer la bonne coordination entre les opérations d'échantillonnage et les analyses de laboratoire, appartenant soit à l'organisme d'échantillonnage, soit au laboratoire en charge des analyses, doit être identifié. Cette coordination est particulièrement importante pour les étapes suivantes :

- respect des délais échantillonnage-analyse,
- respect des consignes relatives au conditionnement, à la conservation, et au transport des échantillons biologiques.

Le laboratoire en charge des analyses est responsable, sans délégation possible :

- du choix technique du matériel cité en 4.2,

- de l'approvisionnement et de la vérification de l'absence de contamination de celui-ci,
- de la transmission des consignes de conditionnement et de transport des échantillons.

4.2 Matériel à la charge du laboratoire et consignes associées

Avant le début des analyses, le laboratoire en charge des analyses doit :

- fournir le matériel nécessaire au conditionnement et transport des échantillons (glacières, blocs eutectiques, enregistreurs de température, ...)
- s'assurer que le matériel directement en contact de l'échantillon (ex : flaconnage, papier aluminium, ...) est exempt de contamination ;
- clairement identifier les contenants (sacs, flacons, ...) vis-à-vis des paramètres à analyser ;
- fournir les consignes liées au matériel (nature, quantité, maniement), à l'étiquetage, au conditionnement, aux conditions de transport ;
- garantir la compatibilité des matériels utilisés et l'absence de risque de contamination, soit en effectuant des contrôles de blancs selon un protocole défini par le laboratoire, soit en s'assurant que ces contrôles ont été effectués par leur prestataire. Le mode opératoire pour la réalisation de ces contrôles doit être tenu à disposition du demandeur.

Les consignes spécifiques aux conditionnements des matrices poissons et gammars sont détaillées dans les paragraphes suivants.

Pour les gammars, les opérations amont (tri, conditionnement et congélation à -18°C) sont de la responsabilité de l'organisme d'échantillonnage.

L'ensemble de ces éléments et informations doit être envoyé **aux organismes d'échantillonnage avant le début de la campagne d'échantillonnage** et suffisamment à l'avance afin que l'organisme d'échantillonnage puisse respecter les durées de mise au froid des blocs eutectiques préconisées par le fabricant.

4.2.1 Matériel spécifique au conditionnement et transport des poissons

Pour **chaque site** et **chaque date d'échantillonnage**, les éléments/matériels qui doivent être fournis à terme par le laboratoire en charge des analyses à l'organisme d'échantillonnage sont décrits dans le Tableau 1. Pour la plupart des sites, un seul lot est à constituer. Dans le cas d'un site où deux lots seraient à constituer, le matériel à fournir en double est précisé dans le Tableau 1.

AQUAREF propose que le laboratoire en charge des analyses fournisse les étiquettes pré-imprimées car il a la connaissance de l'ensemble des informations utiles en amont de la campagne d'échantillonnage. Des modèles d'étiquettes pré-imprimées sont proposés en annexe 1, ainsi que le rappel de la codification SANDRE des différentes espèces de poissons.

De plus, AQUAREF recommande que le matériel de réfrigération utilisé pour le transport des échantillons ait des performances thermiques conformes à la norme NF S 99-700.

Tableau 1 : Matériel à fournir (à terme) par le laboratoire en charge des analyses à l'organisme d'échantillonnage par station et par date d'échantillonnage

Matériel	Quantité	A dupliquer si second lot	Remarque
Sac plastique étanche de capacité de 20 L et de taille 40X60 cm en polyéthylène capable de contenir les 8 à 10 poissons du lot	1	OUI	AQUAREF propose que sur le sac de 20 L, une étiquette soit collée avec les informations pré-remplies ^[1] de façon indélébile, le laboratoire en charge des analyses ayant connaissance de l'ensemble des informations utiles en amont de la campagne d'échantillonnage. Les mêmes étiquettes pré-remplies sont collées sur chaque feuille de papier aluminium qui entoure le poisson. L'organisme d'échantillonnage indique uniquement le numéro du poisson et le nombre d'individus du lot (1,2,3,4,5,6,7,8 ou 9 ou 10)
Sac plastique étanche de capacité de 30 L et de taille 45X80 cm en polyéthylène capable de contenir le sac de 20 L avec les 8 à 10 poissons du lot	1	OUI	Ce second sac de 30 L vierge d'étiquette, servira à maintenir l'étiquette du lot et à la protéger de l'humidité.
Feuilles de papier aluminium de qualité alimentaire	20	OUI	Ces feuilles vont servir à emballer chaque poisson de manière individuelle.
Étiquettes de qualité résistante à l'eau pour l'identification de chaque poisson du lot	10 (poissons) +1 (lot)	OUI	AQUAREF propose que chaque étiquette soit pré-remplie de façon indélébile avec l'ensemble des informations liées au site. Une étiquette sera collée sur le sac du lot et sur chaque feuille en aluminium entourant chaque poisson avec un champ « numéro de l'individu » que l'organisme d'échantillonnage du site renseignera.
Matériel de réfrigération (enceintes et blocs eutectiques propres dédiés à l'usage professionnel)	1	NON	Le matériel de réfrigération doit avoir la capacité de maintenir une température de transport de (5 ± 3) °C pendant 48h (journée de pêche + transport) jusqu'à l'arrivée au laboratoire en charge des analyses ou jusqu'au lieu de stockage.
Matériel nécessaire au suivi de la température interne des enceintes de transport	1	NON	Plusieurs moyens peuvent être mis en œuvre : pastilles, thermomètre flacon, enregistreur [AQUAREF, 2011].
Système de calage (cartons, papier bulle, croisillon par exemple)	1	NON	Ce système permet d'éviter le contact direct des blocs eutectiques avec les poissons

^[1] Sur chaque étiquette, les informations recommandées sont l'identification du lot (date, identité station, espèce), le numéro/nom de l'antenne AFB ou nom du bureau d'études, l'identité de la station (code SANDRE pour les cours d'eau et code de la masse d'eau pour les plans d'eau) ; le nom de la station (pour les cours d'eau) ; le nom du cours d'eau/plan d'eau, le nom de l'espèce prélevée (cf Annexe 1, Tableau 2), la date du prélèvement, et les champs « numéro du poisson et nombre d'individus » (à renseigner par l'organisme d'échantillonnage sur site).

4.2.2 Matériel spécifique au conditionnement et transport des gammars

Le laboratoire en charge des analyses doit fournir :

- le nombre de flacons nécessaires (de taille adaptée) selon les substances à analyser.
- deux types de flacons clairement identifiés selon les substances analysées et résistant à la congélation :
 - verre teinté pour les composés organiques et les mesures complémentaires pour le gammare ;
 - polyéthylène ou polypropylène pour les métaux.
- dans le cas de l'analyse du mercure seulement (pas des autres métaux), le verre teinté peut être utilisé.
- des bouchons compatibles avec la nature des substances à analyser (ex : ne pas fournir de bouchons en plastique si des phtalates sont à analyser).
- des étiquettes de qualité adaptées (résistante à l'eau, congélation, ...) sur lesquelles a minima les indications suivantes doivent être inscrites de façon indélébile (ou au moyen de QRCode) :
 - identité de la station (code SANDRE pour les cours d'eau et code de la masse d'eau pour les plans d'eau) ;
 - nom de la station ;
 - nom du cours d'eau ;
 - nature de l'échantillon ;
 - date du prélèvement.
- système de calage (cartons, papier bulle, croisillon par exemple) ;
- matériel de réfrigération (conforme à la norme NF S 99-700). Le matériel de réfrigération doit avoir la capacité de respecter la chaîne de congélation des échantillons jusqu'à l'arrivée au laboratoire en charge des analyses ou jusqu'au lieu de stockage ;
- matériel nécessaire au suivi de la température interne des enceintes de transport. Plusieurs moyens peuvent être mis en œuvre : pastilles, thermomètre flacon, enregistreur [AQUAREF 2011].

5 Conditionnement et transport

5.1 Poissons

Les dispositions détaillées relatives au conditionnement et transport des poissons sont décrites dans le guide échantillonnage biote « poisson » [AQUAREF, 2017]. Pour rappel, une synthèse de la constitution des lots est présentée en annexe 2.

5.2 Gammares

Après les étapes de tri et conditionnement, les gammares sont aliquotés en un nombre connu à l'aide d'un tamis en nylon / polyéthylène et congelés à -18 °C. Ces opérations sont à la charge de l'organisme d'échantillonnage². Les échantillons de gammares sont transportés de manière à respecter la chaîne de congélation jusqu'à réception par le laboratoire en charge des analyses ou jusqu'au lieu de stockage. Il est préférable que le temps d'acheminement soit au maximum de 24 h.

6 Responsabilités du laboratoire en charge des analyses en matière de réception des échantillons

6.1 Contrôles à réception - matrice poissons

Cas de poissons frais

Le laboratoire en charge des analyses doit effectuer un contrôle des échantillons à réception lors de l'enregistrement. Ce contrôle porte sur la conformité du contenu de chaque lot : nombre d'individus, conformité de l'étiquetage pour chaque individu avec complétude des informations (mesure de la taille et pesée notamment), de l'état de réception des poissons (endommagés, état de décomposition, ...), du délai de 24 h entre l'échantillonnage et la prise en charge des échantillons (Cf. 6.3), et de la température de l'enceinte frigorifique (5 ± 3 °C). Ce contrôle doit être enregistré pour en assurer la traçabilité.

En cas de non-respect du délai entre échantillonnage et la prise en charge des échantillons (Cf. 6.3) et/ou de la température de l'enceinte (supérieure à 8 °C ou inférieure à 2 °C), le laboratoire en charge des analyses doit en informer dans les meilleurs délais le demandeur et des actions correctives doivent être engagées. Le demandeur garde la possibilité de ne pas admettre les échantillons.

Cas de poissons congelés

Le laboratoire en charge des analyses doit effectuer un contrôle des échantillons à réception lors de l'enregistrement. Ce contrôle porte sur la conformité du contenu de chaque lot : nombre d'individus, conformité de l'étiquetage pour chaque individu avec complétude des informations (mesure de la taille et pesée notamment), de l'état de congélation, de l'état de réception des poissons (endommagés, état de décomposition, ...), du délai entre l'échantillonnage et la prise en charge des échantillons, et de la

² Vérification et comptage du nombre d'individus vivants (seuls les organismes vivants sont conservés pour analyse ; pour cette opération, les gammares sont versés dans un cristalliseur en verre), constitution d'un pool de gammares homogène à partir duquel sont prélevés les différents échantillons pour les analyses, comptage des gammares pour constituer les sous-échantillons à analyser (typiquement 10 individus pour les métaux et 160 individus pour les composés organiques), pesée du poids frais (après égouttage dans un tube percé pour évacuer l'eau en excès). Un lot témoin (organismes non exposés sur le terrain) est préparé de la même façon.

température de l'enceinte compatible avec des conditions de congélation. Ce contrôle doit être enregistré pour en assurer la traçabilité.

En cas de non-respect du délai entre échantillonnage et prise en charge des échantillons et/ou de la température de l'enceinte, le laboratoire en charge des analyses doit avertir le demandeur immédiatement et des actions correctives doivent être engagées. Le demandeur garde la possibilité de ne pas admettre les échantillons.

6.2 Contrôles à réception - gammares

Le laboratoire en charge des analyses doit effectuer un contrôle des échantillons à réception lors de l'enregistrement. Ce contrôle porte sur la conformité de l'étiquetage pour chaque échantillon avec complétude des informations (pesée du poids frais notamment), de l'état de congélation, de l'état de réception des gammares (état de décomposition, ...), du délai entre la fin de l'étape de conditionnement et la prise en charge des échantillons par le laboratoire (Cf. 5.2). Ce contrôle doit être enregistré.

En cas de non-respect du délai entre l'envoi des échantillons par l'organisme d'échantillonnage et la prise en charge des échantillons et/ou de l'état des échantillons, le laboratoire en charge des analyses doit avertir le demandeur immédiatement et des actions correctives doivent être engagées. Le demandeur garde la possibilité de ne pas admettre les échantillons.

6.3 Prise en charge des échantillons

6.3.1 Poissons

Cas des poissons frais

AQUAREF recommande la levée des filets (7.3.1) à réception et au plus tard le lendemain de la réception des échantillons, conservés à 5 ± 3 °C.

Il est recommandé de lever les filets sur les poissons frais. AQUAREF ne recommande pas de congeler l'échantillon à la réception. Si les opérations ne peuvent être réalisées dans les 24 h après réception, le laboratoire en charge des analyses pourra exceptionnellement congeler les échantillons à -18°C. Si le laboratoire effectue la congélation des échantillons à réception, il doit justifier de cette pratique. Il doit en informer le demandeur.

Cas des poissons congelés

Dans le cas d'une congélation de l'échantillon par l'organisme d'échantillonnage et d'une réception de poissons à l'état congelé, les échantillons pourront être stockés au congélateur dès leur réception au laboratoire en charge des analyses jusqu'à leur traitement. AQUAREF ne recommande pas la congélation d'échantillons ayant subi une décongélation durant le transport. Si l'échantillon arrive au laboratoire décongelé, celui-ci devra procéder à la levée des filets dès leur réception.

En l'absence de données disponibles sur la conservation des poissons, AQUAREF propose de suivre les recommandations qui sont mises en place sur la matrice poisson dans la cadre des contrôles agro-

alimentaires avec une durée de conservation maximum de 30 jours à -18 °C [Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2018].

6.3.2 Gammars

AQUAREF recommande que les échantillons (congelés) soient stockés au congélateur (-18 °C) dès leur réception au laboratoire en charge des analyses et jusqu'à leur traitement (Tableau 3).

Dans l'éventualité d'une décongélation suite au transport, l'échantillon devra être congelé immédiatement. Le laboratoire doit en informer le demandeur.

7 Analyse

7.1 Responsabilité du laboratoire en charge des analyses

Pour les substances chimiques, les limites de quantification et les incertitudes de mesure revendiquées par le laboratoire en charge des analyses devront, à terme, respecter la version en vigueur de l'arrêté portant sur les modalités d'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques au titre du code de l'environnement. Les limites de quantification et les supports sur lesquels devront être réalisées les analyses seront mentionnés dans l'avis associé à l'arrêté sus-cité. Ils devront, à terme, être respectés par le laboratoire en charge des analyses.

Afin de garantir la qualité des données de mesure, AQUAREF recommande de suivre les points suivants :

- Le laboratoire en charge des analyses s'engage à réaliser les analyses dans le respect des prescriptions des normes NF, EN ou ISO lorsqu'elles existent et répondre, à terme, aux performances analytiques décrites dans l'avis associé à l'arrêté d'agrément. Les méthodes d'analyse utilisées par le laboratoire doivent être (par ordre décroissant de priorité) :
 - des méthodes pour lesquelles le laboratoire d'analyses est agréé,
 - des méthodes pour lesquelles le laboratoire d'analyses est accrédité selon le référentiel NF EN ISO 17025 (ou référentiel équivalent – l'équivalence devra être précisément argumentée dans l'offre si cette option est choisie).

En l'absence d'accréditation, des méthodes validées pour le domaine d'application considéré (matrice et gamme de concentration) suivant les exigences de la norme NF EN ISO 17025 (ou référentiel équivalent – l'équivalence doit être précisément argumentée dans l'offre) doivent être utilisées.

En l'absence de référentiel, les caractéristiques de performance des méthodes d'analyse du biote peuvent être établies selon le protocole des méthodes standardisées NF T90-210 ou NF V03-110. La validation initiale doit comprendre *a minima* linéarité, exactitude, fidélité intermédiaire, limite de quantification. La limite de quantification est définie selon un écart maximum acceptable qui est fixé au plus à 60%.

Les incertitudes peuvent être établies suivant la norme NF ISO 11352. Elles doivent *a minima* prendre en compte la variable aléatoire et la variable systématique.

- Le laboratoire en charge des analyses garantit la validité des méthodes utilisées dans le domaine d'application considéré, de l'incertitude de mesure et de la limite de quantification pour chaque paramètre ;
- Le laboratoire en charge des analyses tient à disposition du demandeur la justification des méthodes utilisées. Leur traçabilité documentaire doit donc être assurée par le laboratoire en charge des analyses ;
- Le laboratoire en charge des analyses justifie dans un document synthétique les performances des méthodes proposées ;
- Le laboratoire en charge des analyses précise sa politique quant à la correction des résultats par le rendement d'extraction pour les composés organiques ;
- Le laboratoire en charge des analyses signale au demandeur préalablement à la campagne d'analyse concernée toutes modifications des méthodes d'analyse ou de leurs performances, ou tout élément sollicité par le demandeur ;
- Au moins une fois par campagne et si besoin par une procédure simplifiée, le laboratoire en charge des analyses s'engage à vérifier expérimentalement qu'il respecte toujours les performances analytiques déclarées en termes de limites de quantification, de rendement d'extraction et de blancs de méthode (i.e., vérification sur une matrice représentative avec mise en œuvre de l'ensemble de la méthode d'analyse, vérification des rendements, ...). En cas de modifications de ces performances, le laboratoire en charge des analyses doit avertir le demandeur immédiatement et des actions correctives seront engagées.
- Le laboratoire en charge des analyses apporte une attention particulière à la qualité des étalons analytiques (titration et pureté) ; lorsqu'ils existent, le laboratoire doit utiliser des matériaux de références certifiés.
- Le laboratoire en charge des analyses contrôle systématiquement les effets de matrices dans les procédures analytiques. Cela peut être effectué par l'utilisation d'étalons internes adaptés aux paramètres analysés ou par ajouts dosés.
- Aucune correction des résultats par le blanc de méthode en charge des analyses n'est effectuée, sauf exceptions spécifiées dans les normes.

Pour les substances pour lesquelles des comparaisons inter-laboratoires de type essais d'aptitude ne sont pas disponibles, il est recommandé que le laboratoire en charge des analyses mette en place et réalise régulièrement des contrôles qualité supplémentaires : analyse en routine à une fréquence déterminée de matériaux connus (matériaux internes de laboratoire, matériaux de référence, matériaux de référence certifiés). Les résultats de ces contrôles sont tenus à disposition du demandeur.

7.2 Recommandations vis-à-vis des risques de contamination

Le laboratoire en charge des analyses veille au respect de l'intégrité de l'échantillon tout au long du processus de mesure. Les risques de contamination de l'échantillon par l'opérateur ou par les

environnements de laboratoire (stockage, matériels, etc.) sont extrêmement importants et varient selon les substances à analyser.

Le recours à des blancs systématiques englobant l'ensemble du processus de mesure est indispensable.

En fonction des contaminations avérées lors de la mesure des substances à analyser, des recherches peuvent inclure des modifications des pratiques des opérateurs (consommation ou utilisation de certains produits, nature et fréquence de changement des équipements de protection individuelle (EPI), organisation des espaces de travail, ...).

Des risques de contamination des échantillons via l'opérateur sont également possibles par d'autres voies comme le tabac (ex : HAP, cadmium, ...).

La réalisation de blancs méthodes doit être effectuée pour tous les paramètres. Une vigilance particulière doit être apportée notamment aux paramètres suivants : mercure, HAP, PCB, dioxines, PBDE et retardateurs de flamme bromés apparentés, phtalates, perfluorés, organoétains. Cette liste est non-exhaustive et évolutive.

Pour les gammars, des analyses sur un lot de gammars « témoins » non exposés sur le terrain doivent être réalisées pour les substances à rechercher à intervalle prédéfini en accord avec l'organisme d'échantillonnage. Ces échantillons sont à fournir par l'organisme d'échantillonnage.

7.3 Recommandations pour l'analyse du biote

7.3.1 Pré-traitement des échantillons

7.3.1.1 Poissons

Afin de faciliter la mise en œuvre des différentes étapes de préparation du poisson, AQUAREF propose une organisation linéaire des postes de travail sur la paillasse.

Pour l'ensemble des substances chimiques concernées, l'analyse des poissons s'effectue exclusivement sur le filet (muscle de poisson – code sandre « fractions analysées » 102), sous la forme d'un échantillon composite mono-spécifique (i.e., lot) constitué d'au moins 8 individus de taille homogène (200 à 250 mm préférentiellement). Les filets doivent être broyés de façon homogène, et peuvent être analysés sous forme frais ou sec.

Le laboratoire doit vérifier l'intégrité des échantillons (poisson endommagé : écrasé par exemple). Dans le cas d'un échantillon composite, les poissons endommagés doivent être exclus du lot. Cette information doit être tracée et tenue à disposition du demandeur.

Si des poissons sont exclus et que le nombre de poissons exploitable est inférieur à 8, l'analyse est effectuée uniquement si la quantité de matériel biologique (i.e., prise d'essai) est suffisante pour conduire l'ensemble de l'analyse des substances prioritaires.

Des informations sur la constitution des lots et sur les quantités nécessaires pour conduire l'ensemble des analyses des substances prioritaires sont présentées en annexe 2.

- **Pesée des poissons**

Le laboratoire effectuera la pesée de chaque poisson avant toute autre opération.

La pesée du poisson doit se faire avec une balance de précision de 0,1 g (au minimum).

- **Mesure des poissons**

Si le champ " taille de chaque individu " n'a pas été rempli, le laboratoire effectuera la mesure de chaque poisson avec une ou plusieurs règle(s) graduée(s) de taille adaptée avec une précision millimétrique (après décongélation si le poisson a été conservé congelé).

Pour déterminer la taille des poissons, la mesure de la longueur totale (de la tête à la queue) doit être réalisée (Figure 1).

Le laboratoire doit effectuer les mesures de chaque poisson avant toute autre opération.

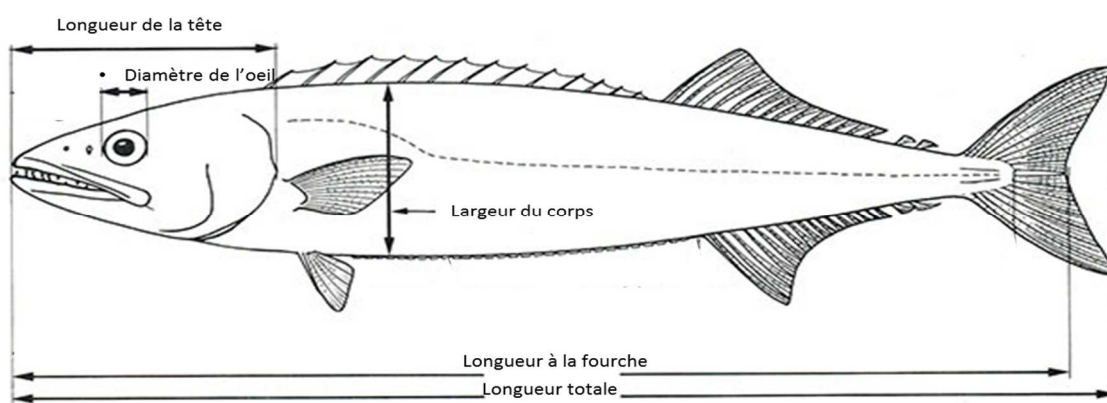


Figure 1. Recommandation pour la mesure des poissons

- **Levée des filets**

Les 2 filets doivent être entièrement découpés pour chaque poisson du lot. AQUAREF recommande d'effectuer la levée des filets à réception des échantillons sur des poissons frais.

Dans le cas d'une congélation des poissons, la levée des filets doit être effectuée lorsque des cristaux de glace sont encore présents. Il ne faut pas laisser le poisson se décongeler totalement avant d'entamer la dissection. La décongélation est effectuée soit au réfrigérateur, soit à température ambiante dans le contenant individuel.

L'opérateur en charge de la levée des filets doit porter des gants de type nitrile sans poudre. Les filets peuvent être manipulés à l'aide de pinces en inox. Si des pinces ne sont pas utilisées pour la découpe, la personne qui découpe les filets change de gants entre chaque poisson.

Les poissons sont posés sur une surface propre en céramique, verre ou inox qui peut être, au besoin, recouverte de papier aluminium (changé entre chaque poisson).

Si besoin, au préalable, les écailles peuvent être enlevées en prenant soin de ne pas entailler la peau afin d'éviter toute contamination des tissus.

Les deux filets entiers de chaque poisson sont prélevés avec un couteau en inox, céramique, titane, ou avec un scalpel. Le filet découpé ne touche jamais la planche de travail ; le poisson est posé côté peau sur la planche. L'annexe 3 propose un exemple de méthode pour la découpe des filets.

Le filet est intégralement séparé de la peau. Il est nécessaire que tous les restes de chair musculaire et de tissu adipeux se trouvant sur la face interne de la peau soient soigneusement et entièrement retirés de celle-ci et soient ajoutés à l'échantillon à analyser. Des précautions doivent être prises afin d'éviter de répandre sur le filet d'autres parties/fluides du poisson comme les organes internes qui auraient été touchés/coupés par inadvertance lors de la dissection. Dans ce cas, le filet peut être rincé avec de l'eau distillée puis séché. Une remarque doit être émise lors du rendu des résultats. Toutes les arêtes doivent être enlevées.

Par commodité pour la suite de la préparation, les filets peuvent être coupés en morceaux.

Entre deux échantillons de poisson, le plan de travail est nettoyé à l'eau du robinet et séché à l'aide d'un matériel non-contaminant (papier absorbant par exemple). Le couteau ou scalpel est essuyé avec un papier absorbant, nettoyé à l'eau Milli-Q puis à l'acétone (ou alcool) puis à l'eau Milli-Q. Dans le cas d'un scalpel, si la lame ne peut pas être nettoyée aisément, elle doit être changée entre chaque poisson.

Les deux filets entiers doivent être pesés par individu pour chacun des poissons du lot (poids frais). La pesée des filets doit se faire avec une balance de précision de 0,1 g (au minimum).

Les filets des poissons peuvent être stockés soit individuellement ou soit par lot :

- o Soit enveloppés dans des barquettes en aluminium puis dans un sac en polypropylène. Les barquettes doivent être exemptes de toute contamination (nettoyage préalable par exemple par calcination).
- o Soit conservés dans des flacons en verre ambrés. Les flacons doivent être exemptes de toute contamination (exemple nettoyage par calcination).

Les contenants (sac plastiques ou flacons) doivent être identifiés (par exemple avec des étiquettes).

S'ils sont congelés, les filets de poissons individuels ou par lot doivent être étiquetés en précisant le numéro d'identification, le poids et la date de levée des filets.

- **Préparation d'un échantillon composite**

Le broyage et l'homogénéisation des échantillons peuvent être effectués, selon les pratiques des laboratoires, sur des échantillons frais ou secs. Si l'analyse est effectuée sur un échantillon sec, AQUAREF recommande l'utilisation de la lyophilisation.

Cette procédure doit permettre la préparation d'aliquotes d'échantillons homogènes en vue de l'analyse des différents paramètres (en fonction des prises d'essai).

Un échantillon composite doit inclure la totalité des filets prélevés sur les poissons d'un même lot. AQUAREF recommande que l'échantillon composite soit préparé en regroupant la totalité des filets d'un même lot et en les broyant conjointement. Le laboratoire doit s'assurer de disposer d'un broyeur adapté au broyage et à l'homogénéisation de la quantité totale des filets prélevés.

Si le laboratoire ne dispose pas d'un broyeur de capacité suffisante, le broyage des filets des individus d'un lot peut s'effectuer de manière indépendante. Cette pratique représente néanmoins un risque plus important de pertes d'échantillon et de contamination.

L'ensemble des filets broyés individuellement doit être homogénéisé. Pour obtenir une bonne homogénéité des broyats, notamment dans le cas du broyage séparé des filets, les différents broyats peuvent être réunis et mélangés dans un contenant. Puis ils sont divisés en quart. Les quarts opposés sont réunis et mélangés ensemble. Les deux ensembles constitués sont ensuite mélangés. AQUAREF recommande que ce procédé soit effectué 3 fois au total.

Le contrôle visuel de l'échantillon broyé n'est pas suffisant pour garantir l'homogénéité chimique de l'échantillon. Au regard de sa criticité pour garantir la qualité des mesures biote, AQUAREF recommande que, lors de la validation de méthode, l'homogénéité chimique des échantillons soit vérifiée expérimentalement, par l'analyse répétée ($n \geq 3$) d'aliquotes de l'échantillon (au sein d'un flacon et/ou entre flacons) dans des conditions de répétabilité, pour chaque paramètre revendiqué par le laboratoire. Cette vérification n'est pas à réaliser dans le cadre des analyses de routine. De même, cette vérification devra être réalisée avec la prise d'essai minimale qui pourra être mise en œuvre par le laboratoire en conditions de routine. En effet, chaque matériau est intrinsèquement hétérogène. La quantité minimale de matériau qui est représentative d'une unité entière (bouteille, flacon, etc.) est définie comme étant la prise d'essai minimale de l'échantillon.

Le filet broyé est ensuite conservé dans un flacon en verre ambré fermé hermétiquement dans des conditions appropriées (à l'abri de la lumière, dans une armoire thermostatée pour les échantillons lyophilisés uniquement ou au congélateur) avant analyse. Les conditions d'hygrométrie doivent être contrôlées pour les matériaux lyophilisés. Le laboratoire doit justifier des conditions de conservation des échantillons vis-à-vis de la stabilité des substances analysées.

Des recommandations sur les étapes de lyophilisation, de broyage et d'homogénéisation sont définies dans les parties suivantes.

- **Lyophilisation**

Pour la lyophilisation, des flacons en verre calcinés, des plateaux en inox ou des barquettes d'aluminium peuvent être utilisés pour l'analyse des composés organiques. Pour les métaux, seuls des flacons en verre peuvent être utilisés. Une attention doit être portée aux contaminations qui peuvent intervenir lors de cette étape (contamination par le BDE 47 ou par les dioxines par exemple). Les éléments suivants doivent être vérifiés avant le démarrage de la lyophilisation : la propreté des plateaux du lyophilisateur (dessus et

dessous), de la cloche et du joint. Dans le cas de l'utilisation d'une sonde de température, celle-ci ne doit pas être plongée dans un des échantillons à analyser. Des blancs doivent être réalisés à des fréquences adéquates (à l'aide par exemple de silice comme matrice test).

- **Broyage et homogénéisation**

Si les filets sont manipulés manuellement, des gants de type nitrile sans poudre doivent être portés durant cette étape et changés entre chaque échantillon. Le broyage doit être effectué avec un broyeur adapté à la quantité à traiter, au type d'échantillon (sec ou frais) et avec des matériaux inertes (bol en verre, en agate ou en inox). Dans le cas d'une analyse des métaux (à l'exception du mercure), l'utilisation de matériel en inox est interdite (y compris les lames des broyeurs ; un matériel de type mortier manuel ou broyeur à billes, tout en agate, est recommandé). L'étape de broyage doit être vérifiée en s'assurant qu'aucun morceau n'est encore visiblement présent. Si ce n'est pas le cas, l'étape de broyage doit être répétée.

Entre deux broyages, les différentes parties du broyeur (bol du broyeur, lame, joint, couvercle, ...) sont rincées à l'eau du robinet, essuyées avec un papier absorbant afin d'ôter tout dépôt de chair, puis rincées à l'alcool (qualité analytique), puis à l'eau Milli-Q, et essuyées soigneusement avec un papier absorbant.

7.3.1.2 Gammares

Il est recommandé de réaliser l'analyse des gammares sous forme lyophilisée. Les mêmes recommandations de lyophilisation que celles indiquées pour le poisson sont à appliquer.

Le laboratoire pourra analyser les gammares broyés après décongélation (sans lyophilisation) à condition qu'il possède des éléments pouvant justifier de cette pratique.

Les échantillons lyophilisés peuvent être analysés broyés ou non broyés.

Le broyage doit être effectué avec un broyeur adapté à la quantité d'échantillons à traiter, et au type d'échantillon (sec ou frais). Du fait de la faible masse d'échantillon à analyser, AQUAREF recommande le broyage manuel dans un mortier avec un bol et un pilon en agate. L'étape de broyage doit être vérifiée en s'assurant qu'aucun morceau n'est encore visiblement présent. Si ce n'est pas le cas, l'étape de broyage doit être répétée.

Entre deux broyages de lots différents, les différentes parties du broyeur (bol et pilon du mortier) sont rincées à l'eau du robinet, essuyées avec un papier absorbant afin d'ôter tout dépôt, puis rincées à l'alcool (qualité analytique) puis à l'eau Milli-Q, et essuyées soigneusement avec un papier absorbant.

Les gammares traités sont ensuite conservés avant analyse dans des conditions appropriées (à l'abri de la lumière, dans une armoire thermostatée pour les échantillons lyophilisés uniquement ou au congélateur), dans un flaconnage approprié (cf. 4.2.2). Les conditions d'hygrométrie doivent être contrôlées pour les matériaux lyophilisés. Le laboratoire doit justifier des conditions de conservation des échantillons vis à vis de la stabilité des substances analysées.

7.3.2 Stockage des échantillons

- **Poissons**

Le Tableau 2 indique le conditionnement et les durées maximum recommandées pour les étapes :

- Entre l'échantillonnage et la réception par le laboratoire en charge des analyses
- Entre la réception par le laboratoire et la levée des filets. Le traitement de l'échantillon est recommandé dès la réception au laboratoire : levée des filets, et éventuels lyophilisation et broyage. Dans l'impossibilité de réaliser le traitement des échantillons à la réception au laboratoire en charge des analyses, des recommandations pour la congélation sont indiquées.
- Entre la levée des filets et l'analyse. Une fois traités, les échantillons peuvent être conservés congelés avant l'étape d'analyse, sous différentes conditions selon le type de contaminant d'intérêt.

Tableau 2 : Conditionnement et durées maximum de conservation des échantillons de poisson selon les étapes entre l'échantillonnage et l'analyse au laboratoire

Etape	Conditionnement	Durée maximum
Entre la fin de l'échantillonnage et la réception par le laboratoire	Poisson frais : 5 ± 3 °C	Transport : 24 heures ¹
	Poisson congelé : - 18 °C	
Entre la réception par le laboratoire et la levée des filets	Poisson frais : 5 ± 3 °C	24 heures
	Poisson congelé : - 18 °C	30 jours ²
Entre la levée des filets et l'analyse	Congélation : - 18 °C	Mercure : 28 jours ³ Autres métaux : 6 mois ³ Contaminants organiques : 1 an ³

Source : ¹AQUAREF, 2017 ; ²Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, 2018 ; ³EPA, 2000

- **Gammares**

Le Tableau 3 indique le conditionnement et les durées maximum recommandées pour les étapes :

- Entre la fin du conditionnement (effectué par l'organisme d'échantillonnage par congélation à -18 °C) et la réception par le laboratoire en charge des analyses
- Entre la réception par le laboratoire et l'analyse des gammares. Les échantillons peuvent être conservés congelés avant l'étape d'analyse, sous différentes conditions selon le type de contaminant d'intérêt.

Tableau 3 : Conditionnement et durées maximum de conservation des échantillons de gammars selon les étapes entre l'échantillonnage et l'analyse au laboratoire

	Conditionnement	Durée maximum
Entre la fin du conditionnement et la réception par le laboratoire	Gammars congelés : - 18 °C	Transport : 24 heures
Entre la réception par le laboratoire et l'analyse	Congélation : - 18 °C	Mercure : 28 jours ¹ Autres métaux : 6 mois ¹ Contaminants organiques : 1 an ¹

Source : ¹EPA, 2000

7.3.3 Caractérisation du taux (%) de matière sèche

Pour les poissons, la détermination du taux de matière sèche exprimé en % peut être effectuée à 105 °C sur une aliquote représentative dédiée de l'échantillon composite. L'étape de lyophilisation peut également être utilisée pour cette détermination.

Pour les gammars, la pesée des échantillons frais doit être effectuée par l'organisme d'échantillonnage. Le laboratoire en charge des analyses doit s'assurer que l'organisme d'échantillonnage lui fournisse le poids frais des échantillons de gammars. Le laboratoire doit déterminer le poids sec des échantillons. La précision des balances utilisées par l'organisme d'échantillonnage doit être équivalente à celle du laboratoire et doit lui être communiquée. L'étape de lyophilisation peut être utilisée pour cette détermination. Dans le cas des analyses sur échantillon frais, le laboratoire doit effectuer cette détermination sur une aliquote spécifique.

7.3.4 Détermination du taux de lipides

La détermination du taux de lipides doit être effectuée par gravimétrie sur la matière lipidique extraite à l'aide de solvants organiques.

Elle doit être effectuée soit sur une aliquote spécifique (par exemple entre 1 et 10 g de prise d'essai de poids frais), soit lors de l'extraction d'un échantillon pour un paramètre à analyser si le procédé d'extraction est compatible avec cette mesure. Pour les poissons, elle doit être réalisée sur l'échantillon composite.

Différents types de solvant ou mélange de solvants (par exemple : extraction par dichlorométhane, dichlorométhane/hexane 1/1, toluène/acétone 1/1, acétone/n-hexane 1/1 ; ou cyclohexane/propanol (comme basée sur la méthode de Smedes, 1999)) peuvent être utilisées pour l'extraction de la matière lipidique. Le solvant est évaporé et l'extrait est amené à sec puis le résidu, correspondant à la matière lipidique, est pesé.

L'utilisation de chloroforme (solvant toxique) n'est pas recommandée (exemple : méthode "Bligh and Dyer").

7.3.5 Détermination de la teneur en carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$

La mesure en isotopes de l'azote et du carbone est utilisée pour déterminer la position des organismes au sein d'une chaîne trophique. La détermination doit être effectuée sur un spectromètre de masse à ratio isotopique (IRMS). Les ratios des isotopes stables $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ et $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ sont déterminés en utilisant au moins 5 mg d'échantillons lyophilisés brûlés à haute température (1010 °C).

Des matériaux de référence certifiés (CRM) sont disponibles et doivent être utilisés pour vérifier la validité des mesures.

7.4 Méthodes analytiques

7.4.1 Guides pour les méthodes analytiques

Les analyses du biote peuvent présenter des interférences spécifiques notamment de par le taux de lipides élevé. A titre d'exemple, les teneurs en matière grasse (%) mesurées dans la chair musculaire des poissons prélevés dans le cadre du Plan national d'actions PCB étaient comprises, pour les espèces considérées pour la surveillance régulière, en moyenne entre 0,9% (perche) et 2,6% (truite fario) avec des valeurs maximales supérieures à 19,2% pour la brème.

Un document guide établi par la Commission européenne (European Union, 2014) dresse une revue de méthodes analytiques (publications scientifiques et méthodes de référence) relatives à la mesure des substances prioritaires pour la surveillance du biote.

Les méthodes employées dans le contrôle alimentaire peuvent être utilisées dès lors que leur applicabilité en respect des exigences de la surveillance environnementale a été vérifiée. Pour les gammars, des méthodologies adaptées aux très faibles prises d'essais doivent être mises en œuvre. La validation de la méthode devra démontrer le respect des performances pour cette matrice.

Des fiches méthodes, incluant des données de validation (LQ, incertitudes), sont disponibles sur le site AQUAREF pour un grand nombre de substances réglementaires pour les poissons et/ou crustacés (librement accessibles sous http://www.aquaref.fr/methodes_validees). Le Tableau 4 liste les méthodes ou rapports disponibles pour les substances prioritaires de la DCE.

Tableau 4. Fiche méthode ou rapport AQUAREF pour les substances prioritaires DCE ou recommandées en France pour le suivi dans le biote

Substances	Numéro
Polybromodiphényléthers (PBDE)	MA-07, MA-31
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	AQUAREF, 2015
Hexachlorobenzène	MA-31
Hexachlorobutadiène	MA-31
Mercure	MA-02
Dicofol	MA-70*
Sulfonate de perfluorooctane (PFOS)	MA-46
PCB-DL	MA-31
Hexabromocyclododécane (HBCDD)	MA-50
Heptachlore/heptachlore époxyde	MA-70*
Di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP)**	AQUAREF, 2010
Pentachlorobenzène**	MA-31

*Publication sur le site AQUAREF en 2018 ; ** Substances prioritaires DCE mais sans NQE biote

En l'absence de méthodes suffisamment consolidées, AQUAREF ne recommande pas actuellement le suivi des chloroalcanes à chaîne courte.

Pour l'analyse des dioxines et PCB de type dioxine, AQUAREF recommande de se référer au règlement (UE) N° 252/2012 de la Commission européenne du 21 mars 2012.

Des dispositions spécifiques sur l'analyse des dioxines sont définies dans la note de cadrage méthodologique de l'Agence française pour la biodiversité (AFB) portant sur la mise en œuvre des NQE applicables dans le biote dans les eaux de surface continentales et les eaux littorales de métropole [AFB].

7.4.2. Valeurs guides pour les LQ

Le Tableau 5 présente des valeurs guides provisoires proposées par AQUAREF en termes de limites de quantification pour la mesure des substances prioritaires. Ces valeurs guides ont été établies en fonction des valeurs de NQE "biote" exigées par la DCE (2013/39/EU), et d'une enquête menée auprès des laboratoires prestataires visant à recenser les capacités analytiques pour la mesure des substances prioritaires dans le biote [AQUAREF, 2018].

Tableau 5. Valeurs guides provisoires proposées par AQUAREF en termes de limites de quantification pour la mesure des substances prioritaires dans les matrices biote : filet de poisson et crustacés (en µg/kg poids frais). Pour les dioxines et PCB de type dioxine (Σ 7 PCDD, 10 PCDF et 12 PCB-dl), les valeurs guides sont exprimées en TEQ 2005 (somme des LQ individuelles x TEF 2005).

Paramètre	Code SANDRE	Filet de poisson (µg/kg poids frais)	Crustacés (µg/kg poids frais)
Mercure	1387	6	6
Hexachlorobenzène	1199	3	3
Hexachlorobutadiène	1652	10	10
PBDE	7705	0,05	2
PBDE individuel (28, 47, 99, 100, 153, 154)*	/	0,05	2
Fluoranthène	1191	5	5
Benzo-a-pyrène	1115	1,7	1,7
Sulfonate de perfluorooctane (PFOS)	6561	3	3
Hexabromocyclododécane (HBCDD)	7128	15	0,2
Heptachlore	1197	2	20
Heptachlore epoxide	1748	2	20
Dicofol	1172	10	10
Di(2-éthylhexyl)phtalate (DEHP)	6616	100	100
Pentachlorobenzène	1888	5	50

	TEQ 2005	TEQ 2005	
Dioxines et PCB de type dioxine	7707	5,4E-05	2,2E-03

* Les codes sandre des PBDE sont (entre parenthèses) : BDE 28 (1920), BDE 47 (1919), BDE 99 (1916), 100 (1915), 153 (1912), 154 (1911).

Pour les dioxines et PCB de type dioxine, le détail des valeurs guides proposées par substance est présenté en annexe 4.

7.5 Analyses de confirmation

Le laboratoire en charge des analyses doit conserver le reliquat des échantillons, des extraits, des minéralisats dans les meilleures conditions pour assurer la stabilité des paramètres afin de pouvoir procéder, le cas échéant, à une analyse complémentaire.

Les délais de conservation proposés par le laboratoire doivent être compatibles avec le délai d'acceptation des données par le demandeur.

8 Expression des résultats et métadonnées

8.1 Résultats analytiques

8.1.1 Rendu des résultats pour le biote

Afin de répondre aux exigences de la DCE, les résultats d'analyse des micropolluants organiques et inorganiques doivent impérativement être exprimés en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids frais (code sandre 523 ; unités de référence).

Pour la somme des dioxines et PCB de type dioxine, le rendu des résultats doit être exprimé en équivalents toxiques TEQ 2005 (se référer au règlement (UE) N° 252/2012 de la Commission européenne du 21 mars 2012 pour le calcul des TEQ).

Cas des échantillons analysés secs

Pour les mesures dans le filet de poisson, dans le cas d'une mesure sur poids sec (échantillons lyophilisés), la relation permettant d'exprimer les résultats de concentration en substances prioritaires ou autres substances par rapport au poids frais est la suivante :

Concentration ($\mu\text{g}/\text{kg}$ poids frais) = concentration mesurée ($\mu\text{g}/\text{kg}$ poids sec) \times % de matière sèche de l'échantillon composite (filet de poisson)

Pour les gammars, si cette valeur n'a pas été déterminée par le laboratoire, un % de matière sèche par défaut de 19,2 %³ peut être utilisé pour la conversion des résultats de concentration de $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids sec à $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids frais.

Autres paramètres

Pour la comparaison et normalisation des résultats, les paramètres suivants doivent également être rendus :

Pour les poissons

- poids frais des filets par individu (g) et poids frais total des filets par lot (g) (codes sandre à définir) ;
- % matière sèche (code sandre 7153) de l'échantillon composite (filet de poisson) ;
- % taux de lipides (code sandre 1358) de l'échantillon composite (filet de poisson) ;
- teneur en carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$ de l'échantillon composite (filet de poisson)⁴ (codes sandre à définir).

³ Cette valeur moyenne a été obtenue à partir de mesures de 84 lots de gammars : min = 15,6 % ; max = 24,7 % ; moyenne : 19,2 % ; médiane : 19,1 % ; écart-type = 1,5 % , intervalle de confiance = 0,3 %

⁴ Les analyses pour la mesure de la teneur en carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$ ne sont pour l'instant pas demandées en routine. Pour plus d'informations, cf. [AFB]

Pour les gammars

- poids frais total des gammars (g) (code sandre à définir) ;
- % taux de lipides (code sandre 1358) des gammars ;
- teneur en carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}^4$ (codes sandre à définir).

Caractérisation des performances

Le laboratoire doit tenir à disposition du demandeur les éléments suivants :

- Méthode de détermination et de validation des limites de quantification ;
- Méthode d'évaluation des incertitudes, incluant les principales sources d'incertitude considérées ;
- Résultats des contrôles qualité mis en œuvre lors de l'analyse des échantillons (MRC, blancs...).

8.1.2 Expression des résultats

Le résultat de mesure doit être rapporté avec l'incertitude associée, exprimée avec un facteur d'élargissement $k=2$.

Lors de la restitution des résultats, une vigilance doit être apportée à la significativité des chiffres exprimés.

8.2 Validation des résultats avant transmission

Le laboratoire en charge des analyses doit s'assurer que le résultat à transmettre au demandeur est fiable. Tout résultat douteux, entre autres les valeurs inhabituelles, doit systématiquement être confirmé. La restitution des données doit alors être accompagnée d'un document présentant les valeurs initialement mesurées ainsi que les valeurs mesurées à titre de confirmation.

AQUAREF recommande que les informations suivantes soient transmises par le laboratoire en charge des analyses pour chaque paramètre dans le fichier de résultats adéquat⁵ (EDILABO ou autres) :

- l'identification de l'échantillon comprenant :
 - la date et l'heure d'échantillonnage, arrondie à la 10aine de minutes ;
 - localisation des sites ;
 - la référence de l'échantillon (des lots et des individus pour les poissons) au laboratoire ;
 - la date et l'heure de réception des échantillons au laboratoire ;
 - la température de l'enceinte à réception au laboratoire ;
- le support ;

⁵ Au moment de la rédaction de ce guide, le format de restitution ainsi que les codes sandre associés aux paramètres recommandés n'ont pas été précisés

- la date de mise en route du processus d'analyse (traitement de l'échantillon) ;
- la méthode d'analyse ;
- le référentiel utilisé pour la validation de méthode (NF T 90-210 ou V 03-110) ;
- référence à l'accréditation et à l'agrément, le cas échéant ;
- les commentaires (indiquer les difficultés analytiques rencontrées, interférences, etc.) ;
- le résultat de l'analyse (en précisant s'il s'agit d'une donnée brute, d'une donnée corrigée du blanc de méthode, d'une donnée corrigée du rendement, d'une donnée reconstituée à partir de données sur plusieurs fractions,...) ;
- l'incertitude analytique sur le résultat (avec un facteur d'élargissement $k=2$) ;
- l'unité du résultat ;
- le code remarque ;
- la limite de quantification (exprimée dans la même unité que le résultat) ;
- toute réserve émise au sujet du résultat de l'analyse ;
- la mention « Analyse confirmée », le cas échéant ;
- le code du laboratoire ayant réalisé l'analyse (balise <Analyse/Laboratoire>), si l'analyse a été confiée à un sous-traitant.
- Conformément au référentiel SANDRE, le code remarque 0 est réservé aux analyses qui n'ont pas été réalisées. Pour les analyses en attente de résultats, la balise <Analyse> est absente du fichier.

A ces paramètres généraux, les paramètres spécifiques suivants doivent également être reportés selon le biote considéré :

Pour les poissons

- l'espèce ;
- la fraction analysée (muscle de poisson (filet)) ;
- mesure de taille des individus ;
- mesure du poids des individus et du poids total du lot ;
- poids frais individuel des filets et poids frais total du lot des filets ;
- d'autres paramètres spécifiques :
 - % matière sèche ;
 - % de lipides ;
 - teneur carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$.

Pour les gammars

- l'espèce utilisée ;
- nombre de gammars ;
- poids frais total des gammars pour le flacon des métaux ;
- poids frais total des gammars pour le flacon prévu pour le dosage des composés organiques ;
- d'autres paramètres spécifiques :
 - % de lipides ;
 - teneur carbone $\delta^{13}\text{C}$ et azote $\delta^{15}\text{N}$.

9 Références

Les documents ci-dessous, classés par ordre alphabétiques, sont à prendre en considération.

Référence	Libellé	Accessible sous
AFB	Note de cadrage méthodologique portant sur la mise en œuvre des NQE applicables dans le biote dans les eaux de surface continentales et les eaux littorales de métropole.	En cours de rédaction
AQUAREF, 2009	Schiavone, S., Coquery, M. - 2009. Méthodes de référence existantes pour l'analyse des substances prioritaires dans les sédiments et le biote. Cemagref-Aquaref, 51 p.	http://www.aquaref.fr
AQUAREF, 2010	Schiavone, S., Coquery, M. - 2010. Synthèse bibliographique : méthodes d'analyse du DEHP (di(2-éthylhexyl)phtalate) dans les organismes biologiques. Cemagref-Aquaref, 20 p.	http://www.aquaref.fr
AQUAREF, 2011	Conservation des échantillons d'eau entre le prélèvement et l'analyse : état des lieux sur les outils existants pour contrôler la température des échantillons depuis le prélèvement jusqu'à la réception au laboratoire. AQUAREF, 2011.	http://www.aquaref.fr
AQUAREF, 2015	J. Cabillic et C. Fallot - rapport final sur l'Etude de faisabilité de l'extraction et/ou de la purification par QuEChERS pour l'analyse des HAP dans le biote – Rapport AQUAREF 2015	http://www.aquaref.fr
AQUAREF, 2017	Guide échantillonnage : Conditionnement et transport des échantillons biote (poisson) en milieu continental (cours d'eau) dans le cadre de la surveillance chimique des programmes DCE - AQUAREF 2017	http://www.aquaref.fr
AQUAREF, 2018	Note relative aux propositions de LQ pour la matrice biote	En cours de rédaction
Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable, des Transports et du Logement, 2011	Arrêté du 27 octobre 2011 portant modalités d'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques au titre du code de l'environnement NOR : DEVL1128052A	http://www.legifrance.gouv.fr

Référence	Libellé	Accessible sous
Besse <i>et al.</i> , (2012)	Besse, J.P., Geffard, O., Lopes, C., Chaumot, Coquery, M. - 2012. Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales. Approche de biosurveillance active sur <i>Gammarus fossarum</i> . Irstea-Onema, 63p.	http://www.aquaref.fr
EPA, 2000	Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories, Volume 1 - Fish Sampling and Analysis - Third Edition. EPA, 2000.	https://www.epa.gov
European Union, 2014	Common implementation strategy for the Water Framework Directive(2000/60/EC) guidance document no. 33 on analytical methods for biota monitoring under the water framework directive	http://ec.europa.eu/
Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation , 2018	2018-PSPC annexe 4 - Liste des laboratoires agréés et données techniques générales par couple analyte matrice -13/02/2018 - consulté le 14/02/18	http://agriculture.gouv.fr /laboratoires-agrees-et-reconnus-methodes-officielles-en-alimentation
NF ISO 11352	NF ISO 11352 (2013) « Qualité de l'eau - Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité »	AFNOR
NF T 90-210	NF T 90-210 (2009) « Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire »	AFNOR
NF S 99-700	NF S 99-700 (2007) « Emballages isothermes et emballages réfrigérants pour produits de santé – Méthode de qualification des performances techniques »	AFNOR
NF V 03-110	NF V 03-110 (2010) « Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude »	AFNOR
Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire, 2017	Note technique du 26 décembre 2017 relative à la mise en œuvre du suivi des substances de l'état chimique des eaux de surface dans le biote dans le cadre de la directive cadre sur l'eau conformément à la directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 NOR : TREL1733991N	https://www.legifrance.gouv.fr/
Plan national d'actions PCB	Plan national d'actions PCB. Consultation du site internet le 12/01/2018	http://www.pollutions.eaufrance.fr/pcb/donnees.html

Référence	Libellé	Accessible sous
Smedes, 1999	Smedes F, Determination of total lipid using non-chlorinated solvents, Analyst, 1999, 124, 1711–1718	
EU, 2012	Règlement (UE) N°252/2012 de la Commission du 21 mars 2012 portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires et abrogeant le règlement (CE) n°1883/2006	http://eur-lex.europa.eu
XP T 90-214	XP T 90-214 « Qualité de l'eau - Caractérisation d'une méthode - Critères pour l'évaluation d'une méthode d'analyse pour la détermination de composés organiques multi-classes par spectrométrie de masse »	AFNOR

10 Liste des annexes

Annexe	Libellé
1	Exemples d'étiquettes DIR ou Bureau d'études pour les lots de poissons ou les individus des lots
2	Rappel sur la constitution des lots de poissons
3	Exemple de protocole pour la découpe des filets de poissons (adapté d'[EPA, 2000])
4	Valeurs guides pour la mesure dioxines et PCB de type dioxine (7 PCDD, 10 PCDF et 12 PCB-dl) dans le biote (en µg/kg poids frais)

ANNEXE 1

Exemples d'étiquettes DR AFB ou Bureau d'études pour les lots de poissons ou les individus des lots

	DR AFB Cours d'eau	DR AFB Plan d'eau	BE Cours d'eau	BE Plan d'eau
Lot de poissons	<p>ID Lot : 2017/03032000/1 ou /2</p> <p>DIR Normandie Hauts de France</p> <p>Station : 3032000 L'Yonne à Montereau-Fault-Yonne Cours d'eau : Yonne</p> <p>Espèce : BRE Date du prélèvement : 20/09/2017</p>	<p>ID lot : 2017/FRGL097/1 ou /2</p> <p>DR Auvergne Rhône-Alpes</p> <p>Code de la masse d'eau : FRGL097 RETENUE DE GRANGENT</p> <p>Espèce : BAF Date du Prélèvement : 15/09/2017</p>	<p>ID Lot : 2017/03032000/1 ou /2</p> <p>Nom du Bureau d'étude</p> <p>Station : 3032000 L'Yonne à Montereau-Fault-Yonne Cours d'eau : Yonne</p> <p>Date du prélèvement : 20/09/2017</p>	<p>ID Lot : 2017/FRGL097/1 ou /2</p> <p>Nom du Bureau d'étude</p> <p>Code de la masse d'eau : FRGL097 RETENUE DE GRANGENT</p> <p>Espèce : BAF Date du prélèvement : 20/09/2017</p>
Individu du lot	<p>ID Lot : 2017/03032000/ []</p> <p>DIR Normandie Hauts de France</p> <p>Station : 3032000 L'YONNE A MONTEREAU-FAULT-YONNE Cours d'eau : Yonne</p> <p>Espèce : BRE Date du pvt : 18/09/2017</p>	<p>ID lot/indv : 2017/FRGL097 []</p> <p>DR Auvergne Rhône-Alpes</p> <p>Code de la masse d'eau : FRGL097 RETENUE DE GRANGENT</p> <p>Espèce : BAF Date du pvt : 15/09/2017</p>	<p>ID Individu : 2017/03032000/ []</p> <p>Nom du Bureau d'étude</p> <p>Station : 3032000 L'Yonne à Montereau-Fault-Yonne Cours d'eau : Yonne</p> <p>Espèce : BRE Date du prélèvement : 20/09/2017</p>	<p>ID Individu : 2017/FRGL097 []</p> <p>Nom du Bureau d'étude</p> <p>Code de la masse d'eau : FRGL097 RETENUE DE GRANGENT</p> <p>Espèce : BAF Date du prélèvement : 20/09/2017</p>

ANNEXE 2

Rappel sur la constitution des lots de poissons [AQUAREF, 2017]

Sur chaque site, est prélevé :

Un lot composé de 8 à 10 poissons d'une même espèce et de taille homogène (si possible 20 cm à 25 cm, sinon 20 cm à 30 cm).

Sur les sites RCS préalablement identifiés où les abondances le permettent, deux lots, chacun monospécifique, représentatifs de deux espèces différentes (par exemple CHE et BAF, ou CHE et GAR, ou BRE et GAR) sont prélevés selon les mêmes principes, afin d'évaluer l'effet du choix de l'espèce sur les niveaux de contamination observés.

Au total chaque lot est constitué *a minima* de 800 g de poissons et préférablement de 1 kg de poissons.

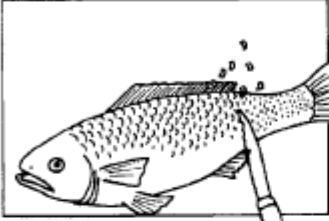
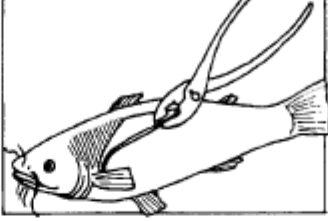
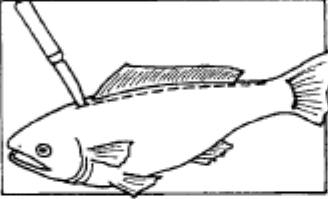
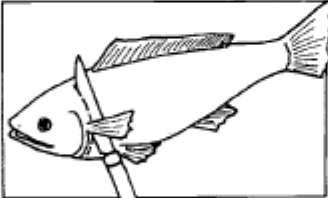
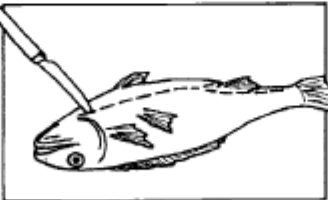

Pour la réalisation de l'ensemble des analyses des substances prioritaires, suivant une enquête effectuée auprès des laboratoires, il a été déterminé que les laboratoires avaient besoin d'une prise d'essai (PE) de 174 g de filet frais (valeur médiane, \sum PE Percentile 75 = 299 g, \sum PE max = 381 g).

Cette valeur a été déterminée en prenant en compte que certaines substances étaient analysées lors d'une même filière analytique (HCB + HCBd, PBDE, heptachlore + heptachlore époxyde + dicofol, dioxines + PCB) ou d'autres individuellement (mercure, PFOS, HBCDD). Dans les faits, certaines de ces substances ou familles de substances peuvent être regroupées, ce qui a pour conséquence de diminuer la prise d'essai nécessaire. Ainsi, par exemple, si l'analyse des PBDE et des dioxines + PCB est effectuée conjointement, la prise d'essai nécessaire pour l'analyse de la totalité des substances prioritaires est évaluée à 104 g de filet frais (valeur médiane, \sum PE Percentile 75 = 199 g, \sum PE max = 281 g).

Données issues du document « Mise en place de la surveillance biote dans les milieux aquatiques - Enquête sur les capacités analytiques des laboratoires » [AQUAREF, 2018].

ANNEXE 3

Exemple de protocole pour la découpe des filets dans les poissons (adapté d'[EPA, 2000])

<p>1 Poisson à écailles</p> <p>Après avoir enlevées les écailles (en grattant avec le bord d'un couteau) et rincé le poisson</p> 	<p>1b Poisson sans écailles</p> <p>Agrripper la peau à la base de la tête (de préférence avec des pinces) et tirer vers la queue</p> 	
		<p>Note: cette étape s'applique seulement aux poissons sans écailles</p>
<p>↓</p>	<p>2</p> 	<p>Effectuer une entaille profonde à travers la peau (sur l'autre côté de la nageoire dorsale) du sommet de la tête à la base de la queue</p>
<p>↓</p>	<p>3</p> 	<p>Faire une coupe sur la totalité de la partie située derrière l'opercule des branchies, couper à travers la peau et la chair jusqu'à l'os</p>
<p>↓</p>	<p>4</p> 	<p>Découper le long du ventre de la base de la nageoire pectorale à la queue. Une seule coupe est effectuée de derrière l'opercule des branchies à l'anus et puis une coupe est faite des deux côtés de la nageoire anale. Ne pas couper dans la cavité intestinale car cela pourrait contaminer le filet</p>
<p>↓</p>	<p>5</p> 	<p>Enlever les filets</p>

Source: U.S. EPA, 1991d.

ANNEXE 4

Valeurs guides provisoires proposées par AQUAREF en termes de limites de quantification pour la mesure des dioxines et PCB de type dioxine (7 PCDD, 10 PCDF et 12 PCB-dl) dans le biote (en µg/kg poids frais)

Dioxines, PCDF (furanes), PCB-dl	Code SANDRE	Filet de poisson		Crustacés	
		LQ	LQ * TEF 2005	LQ	LQ * TEF 2005
1,2,3,4,6,7,8,9-Octachlorodibenzodioxine	2566	4,0E-05	1,2E-08	1,6E-03	4,8E-07
1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzodioxine	2575	2,0E-05	2,0E-07	8,0E-04	8,0E-06
1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzofurane	2596	1,3E-05	1,3E-07	5,2E-04	5,2E-06
1,2,3,4,7,8,9-Heptachlorodibenzofurane	2597	1,3E-05	1,3E-07	5,2E-04	5,2E-06
1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzo[b,e][1,4]dioxine	2571	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofurane	2591	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzofurane	2592	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxine	2572	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzofurane	2594	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzo-p-dioxine	2573	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzofurane	2588	1,3E-05	3,9E-07	5,2E-04	1,6E-05
1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzo-p-dioxine	2569	1,3E-05	1,3E-05	5,2E-04	5,2E-04
2,3,4,6,7,8-Hexachlorodibenzofurane	2593	1,3E-05	1,3E-06	5,2E-04	5,2E-05
2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofurane	2589	1,3E-05	3,9E-06	5,2E-04	1,6E-04
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofurane	2586	6,0E-06	6,0E-07	2,4E-04	2,4E-05
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxine	2562	6,0E-06	6,0E-06	2,4E-04	2,4E-04
Octachlorodibenzofurane	5248	2,6E-05	7,8E-09	1,0E-03	3,1E-07
PCB 105	1627	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 114	5433	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 118	1243	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 126	1089	1,5E-04	1,5E-05	6,0E-03	6,0E-04
PCB 156	2032	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 157	5435	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 167	5436	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB 169	1090	1,5E-04	4,5E-06	6,0E-03	1,8E-04
PCB 77	1091	1,5E-04	1,5E-08	6,0E-03	6,0E-07
PCB 81	5432	1,5E-04	4,5E-08	6,0E-03	1,8E-06
PCB123	5434	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06
PCB189	5437	6,0E-03	1,8E-07	2,4E-01	7,2E-06

www.aquaref.fr

