



HAL
open science

La normalisation de méthodes : quels enjeux pour la recherche ?

Christian Mougin

► **To cite this version:**

Christian Mougin. La normalisation de méthodes : quels enjeux pour la recherche?. 2024, <https://www.canal-u.tv/chaines/fire/christian-mougin-la-normalisation-de-methodes-quels-enjeux-pour-la-recherche>. 10.60527/wkr3-f458 . hal-04787016

HAL Id: hal-04787016

<https://hal.inrae.fr/hal-04787016v1>

Submitted on 16 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



La normalisation de méthodes : quels enjeux pour la recherche ?

Christian Mougin

INRAE, Plateforme Biochem-Env, Palaiseau
INRAE, UMR ECOSYS, Palaiseau

christian.mougin@inrae.fr



INRAE

Webinaire FIRE – 12 novembre 2024



Pourquoi normaliser une méthode ?



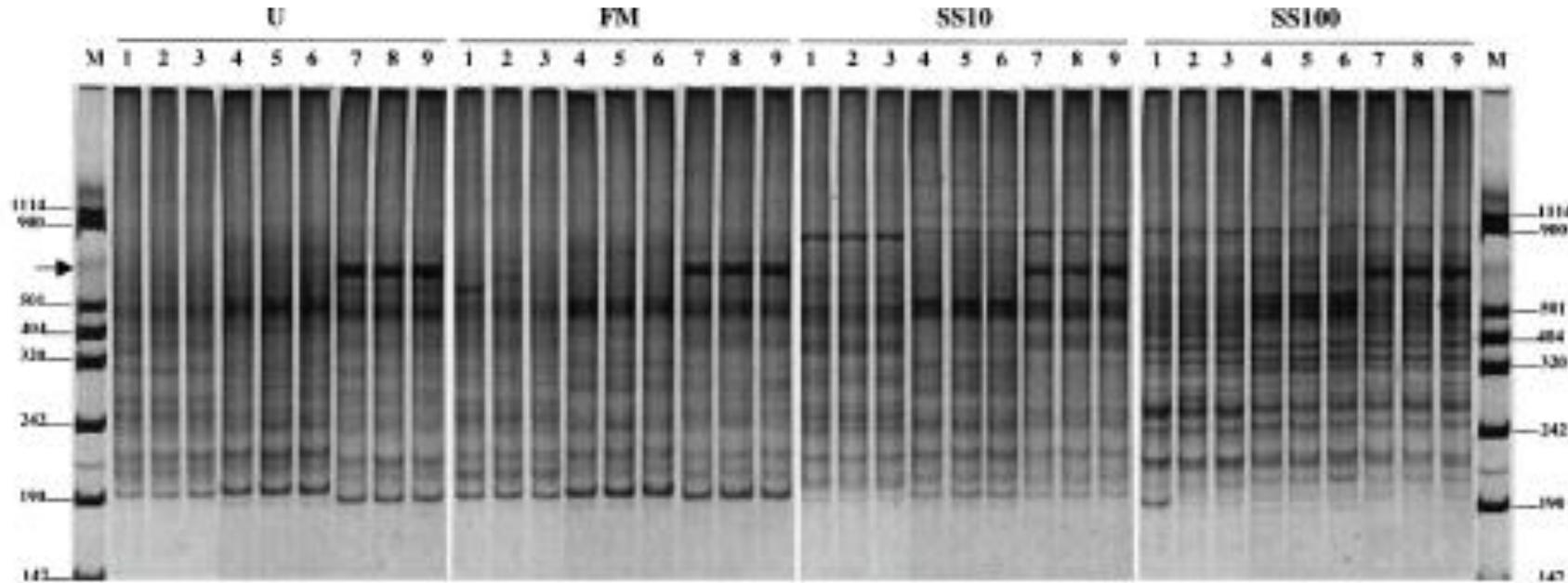
Conservation des sols vs activités enzymatiques

- Différentes conditions de conservation et de traitement des sols avant analyse
 - Sec > frais, températures
 - Les valeurs d'AE présentent des écarts significatifs
 - Expression : mU/g, nmol/h/g, µg/h/g...

Mougin et al., non publié

SOILS	STORAGE	TIME (day)	ARYLS	PHOS	GLU	URE	
LNC (% evolution of activity from fresh soil)	fresh (mU/g dw)		4.39	19.83	9.77	6.34	
	dry 5 weeks and rewetted 80%WRC	0	91	70*	99	36*	
		1	82*	76*	100	88	
		2	90	100	126*	106	
		4	73*	78*	120*	83*	
		7	82*	89	117*	82*	
		11	81*	88	113*	78*	
	Stored at 4 °C	15	78*	78*	121*	84*	
		3	100	107	134*	97	
		6	103	110	134*	88	
		9	102	110	159*	91	
		15	95	102	118*	26*	
		30	85*	98	112	43*	
	Frozen at -20 °C	60	94	101	125*	83*	
		15	90	89	109	69*	
		30	80	88	124*	79*	
	ultrafreeze at -80 °C	60	89	85*	119*	56*	
		15	92	113*	123*	78*	
		30	94	90	143*	78*	
			60	98	107	130*	58*

Extraction de l'ADN du sol vs diversité bactérienne



1, 2, 3 Home made
4, 5, 6 Mo Biokit
7, 8, 9 Bio101 kit

- L'analyse RISA révèle clairement que l'abondance des phylotypes et la composition de la communauté bactérienne indigène du sol dépendent de la méthode d'extraction de l'ADN utilisée

Analyse chimique

- **Un même composé dans une même matrice peut être analysé par une méthode souvent spécifique à chaque laboratoire**
 - **Extraction : fluides supercritiques, soxhlet, ultra sons, agitation....**
 - **Purification**
 - **Analyse**

Des questions

- **Quelle est la variabilité introduite par une méthode dans la valeur des résultats obtenus (conservation, extraction, mesure, bioinformatique...)?**
- **Les méthodes utilisées sont-elles toujours validées (fidélité, linéarité, limite de détection, effet matrice, stabilité, interférences...)?**
- **Comment s'assurer de la qualité, de la fiabilité et de la cohérence des résultats, qui doivent être comparables entre des utilisateurs différents ?**

La question de la qualité des méthodes est importante en recherche, notamment dans le cadre de projets pluripartenaires !

La normalisation



La normalisation

- **Décret N°2009-697 du 16 juin 2009** : La normalisation est une **activité d'intérêt général** qui a pour objet de **fournir des documents de référence** élaborés de **manière consensuelle** par toutes les parties intéressées, portant sur des **règles**, des **caractéristiques**, des **recommandations** ou des **exemples de bonnes pratiques**, relatives à des **produits**, à des **services**, à des **méthodes** (qualité des sols), à des processus ou à des **organisations** (ISO9001, ISO14001...)
- Elle vise à **encourager le développement économique et l'innovation** tout en prenant en compte des **objectifs de développement durable**
- Les normes sont établies par un organisme **de normalisation reconnu**
- Leur utilisation est **volontaire** ou **règlementaire**
- Les utilisateurs sont variés : **gouvernements, agences, chercheurs ...**



Quelques structures de normalisation



Normes, spécifications techniques, guides...
> Tous domaines



Lignes directrices
> Essais sur les produits chimiques



Global Soil Laboratory Network (GLOSOLAN)

Standard Operating Procedures
> Analyse des sols

La qualité du sol, l'ISO/TC 190 (1)



- **Normalisation dans le domaine de la qualité du sol**
 - Les sols *in situ*
 - Les matériaux de type sol destinés à être réutilisés sur/dans les sols, incluant les sols submergés dragués (= sédiments excavés)
- **Sont exclus**
 - Les seuils ou les valeurs limites pour l'évaluation de la qualité des sols
 - Les aspects de génie civil (déjà traités par l'ISO/TC 182 "Géotechniques")
 - Les sédiments *in situ* (déjà traités par l'ISO/TC 147 "Qualité de l'eau")
- **Pilotage**
 - DIN : Président, community manager
- **Fonctionnement**
 - 1 semaine annuelle de réunions à l'automne, des réunions intermédiaires si besoin

La qualité du sol, l'ISO/TC 190 (2)



- **ISO/TC 190/SC 3 : Méthodes chimiques et caractéristiques physiques**
 - DIN
- **ISO/TC 190/SC 4 : Caractérisation biologique**
 - AFNOR, INRAE
- **ISO/TC 190/SC 7 : Évaluation des impacts**
 - AFNOR, BRGM
- **ISO/TC 190/WG 1 : Sols et changement climatique**
 - AFNOR, INRAE
- **ISO/TC 190/WG 2 : Terminologie et gestion des données**
 - AFNOR, IRD
- **ISO/TC 190/WG 3 : Évaluation des fonctions du sol / services écosystémiques**
 - AFNOR, INRAE

La caractérisation biologique du sol, l'ISO/TC 190/SC 4



- **Management** : AFNOR / INRAE
- **ISO/TC 190/SC 4/WG 2 : Effets sur la faune du sol**
 - DIN
- **ISO/TC 190/SC 4/WG 3 : Effets sur la flore du sol**
 - AFNOR / INERIS
- **ISO/TC 190/SC 4/WG 4 : Effets sur les micro-organismes du sol**
 - IPQ
- **ISO/TC 190/SC 4/WG 5 : Aspects écotoxicologiques**
 - DIN
- **ISO/TC 190/SC 4/AHG 1 : Méthodes de détermination de la biodégradabilité dans les sols**
 - AFNOR / INERIS
- **ISO/TC 190/SC 4/AHG2 : Groupe mixte ISO/TC 190/SC 4 - ISO/TC 147/SC 5 : révision de l'ISO/TS 20281 (Qualité de l'eau - Lignes directrices relatives à l'interprétation statistique de données écotoxicologiques)**
 - UNMZ

Les liaisons



- **S'informer, travailler en concertation sur des sujets partagés**
- **ISO/TC 61/SC 14 Plastiques – Aspects environnementaux**
- **ISO/TC 147/SC 5 Qualité de l'eau – Méthodes biologiques**
- **ISO/TC 331 Biodiversité**

- **CEN/TC 444 Caractérisation environnementale des matrices solides**

- **OCDE**
- **SETAC (Soil Advisory Group)**

- **A venir : ISO/TC 276 Biotechnology**

Le groupe miroir T95E biosurveillance de l'environnement



- **Pilotage** : présidence INERIS, secrétariat AFNOR
- **Activité**
 - Ecotoxicologie dans les domaines de la qualité des sols, de la qualité de l'eau et des déchets
 - Méthodes d'essai biologiques s'appliquant, selon les sujets, aux sols, sédiments, eaux douces et marines, boues et déchets. Elles concernent l'utilisation de micro-organismes (bactéries, champignons...), d'invertébrés (vers, escargots...), de vertébrés (poissons) et de végétaux (algues, flore du sol...)
- **Lien avec les autres structures de normalisation**
 - International : sous-comités techniques internationaux ISO/TC 190/SC 4 "Qualité des sols – Caractérisation biologique" et ISO/TC 147/SC 5 "Qualité de l'eau – Méthodes biologiques"
 - Européen : écotoxicologie des déchets et des sols (CEN/TC 444/WG 4 "Méthodes d'essai pour la caractérisation environnementale des matrices solides - Caractérisation biologique") et de l'eau (CEN/TC 230 "Analyse de l'eau")

Comment élabore-t-on une norme ISO ?

Besoin >>

Étape	Chef de projet	Experts AFNOR T95/E	Membres ISO/TC 190/SC4	Parties intéressées
1 Proposition	Propose à la commission française de normalisation un nouveau projet de norme et rédige un premier document de travail (NWIP)	Définissent avec le chef de projet la position française au regard du projet, et contribuent à la rédaction du NWIP	Se positionnent sur la proposition à la fois sur son intérêt sur leur niveau d'implication. Approuvent le NWIP pour l'inscrire au programme de travail	Peuvent émettre un avis sur le NWIP 
2 Projet de comité	Rédige le projet de comité (CD) et discute les avis des groupes de travail	Donnent un avis sur le CD	Contribuent à l'élaboration du CD au niveau du groupe de travail et donnent leurs avis lors de la consultation sur le CD	
3 Essai circulaire	Organise un essai circulaire international (généralement sur la base du texte CD), analyse les résultats et produit une synthèse de l'essai circulaire	Proposent des participants à l'essai	Proposent des participants à l'essai	
4 Projet de norme internationale	Rédige le projet de norme internationale (DIS) en vue de sa soumission au vote	Participent à l'enquête publique française sur le DIS	Contribuent à l'élaboration du DIS au niveau du groupe de travail, votent sur le projet DIS	Émettent un avis lors de l'enquête publique française sur le DIS
5 Projet final de norme internationale	Rédige le projet final de norme internationale (FDIS) en vue de sa soumission au vote	Donnent leur avis sur le FDIS	Contribuent à l'élaboration du FDIS au niveau du groupe de travail, votent sur le projet FDIS	
6 Publication de la norme internationale	Publication de la normale internationale et française			

2 Niveaux de textes

- Normes : ISO xxxx
- Spécifications techniques : ISO/TS xxx

Un processus qui dure plusieurs années

Une révision périodique si nécessaire

Une suppression si obsolète ou inutilisée

➤ **Norme ou spécification technique (ou autre document guide)**

Comment identifier une norme ISO ?

DOCUMENT TECHNIQUE EN COOPÉRATION - NE PAS DÉPRIMER
Pour : AFNOR

ISSN 0025-3201

norme française **NF EN ISO 20130**
Mai 2020

Indice de classement : X 31-299

ICS : 13.080.30

Qualité du sol — Mesure de l'activité enzymatique dans des échantillons de sol en utilisant des substrats colorimétriques

E : Soil quality — Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using colorimetric substrates in micro-well plates
D : Bodenbeschaffenheit — Messung von Enzymaktivitätsmustern in Bodenproben mit kolorimetrischen Substraten in Mikrotiterplatten

Norme française

homologuée par décision du Directeur Général d'AFNOR en juin 2020.
Remplace la norme homologuée NF ISO 20130, de juillet 2019.

Correspondance

La Norme européenne EN ISO 20130:2020 est mise en application avec le statut de norme française par publication d'un texte identique et reproduit intégralement la Norme internationale ISO 20130:2018.

Résumé

Le présent document spécifie une méthode de mesure simultanée (ou non) de plusieurs activités des hydrolases (amylase, arylsulfatase, β -galactosidase, β -glucosidase, β -glucuronidase, N-acétylglucosaminidase, phosphatase acide, alcaline et globale, uréase) dans des échantillons de sol en utilisant des substrats colorimétriques. Les activités enzymatiques du sol varient en fonction des saisons et dépendent des caractéristiques chimiques, physiques et biologiques du sol. Cette méthode peut être appliquée soit pour la détection des effets nocifs de substances toxiques ou d'autres agents anthropiques dans un sol contaminé par comparaison avec un sol de référence, soit pour la réalisation d'essais sur des produits chimiques.

Descripteurs

Thésaurus International Technique : sol, qualité, activité enzymatique, mesurage, méthode colorimétrique, essai de laboratoire, essai biologique, réactif chimique, solution tampon, produit en solution, étalon, mode opératoire, échantillonnage, calcul, abondance, uréase.

Modifications

Par rapport au document remplacé, adoption de la norme européenne.

Corrections

Édité et diffusé par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) — 11, rue Francis de Pressensac — 93397 La Plaine Saint-Denis Cedex
Tel. +33 (0)1 41 42 40 00 — Fax. +33 (0)1 41 42 40 00 — www.afnor.org

© AFNOR — Tous droits réservés

Versión de 2020-05-P

Date

NF EN ISO 20130

Titre

- Norme internationale reprise au niveau européen et au niveau français

Champ couvert

Mots clés

Exemple de la norme ISO 20130:2018



Stabiliser les méthodes d'analyse



BIOindicateurs DES OUTILS BIOLOGIQUES POUR DES SOLS DURABLES

- **2 phases : 2004-2008 (développement/sélection) et 2009-2012 (validation)**
- **24 types de bioindicateurs (microorganismes, faune, végétaux) mesurés sur 12 sites expérimentaux**

Les activités enzymatiques des sols



- **Les constats**

- Vision sur l'ensemble des cycles de dégradation de la matière organique
- Indicateurs sélectifs et sensibles
- Méthodes de mesures simples à mettre en œuvre, peu coûteuses
- Nombreuses techniques développées pour un panel large d'enzymes, incluant des hydrolases et oxydoréductases

- **Mais...**

- Méthodes de mesure très diversifiées : pH, durée d'incubation, concentration en substrats, unités d'expression hétérogènes > que mesure-t-on vraiment ?
- Méthodes chronophages et consommatrices de ressources > quelle innovation proposer?
- Interprétation limitée des résultats en situations de référence (évaluation des variations spatiotemporelles naturelles)
- Besoins de multiples situations de perturbations incluant l'usage des sols, la couverture végétale, les intrants chimiques
- Des données et métadonnées hétérogènes, disséminées

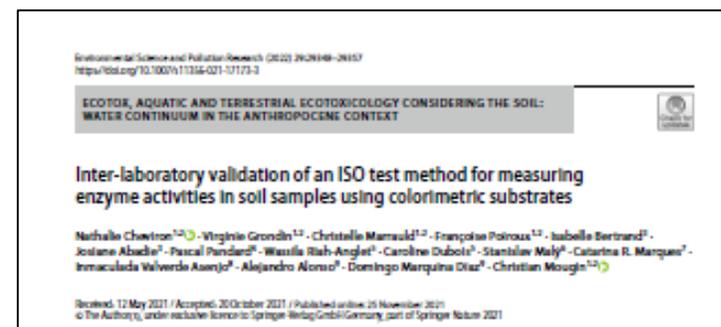
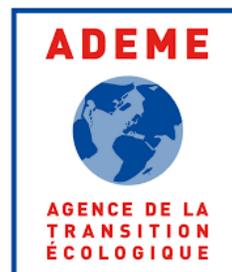
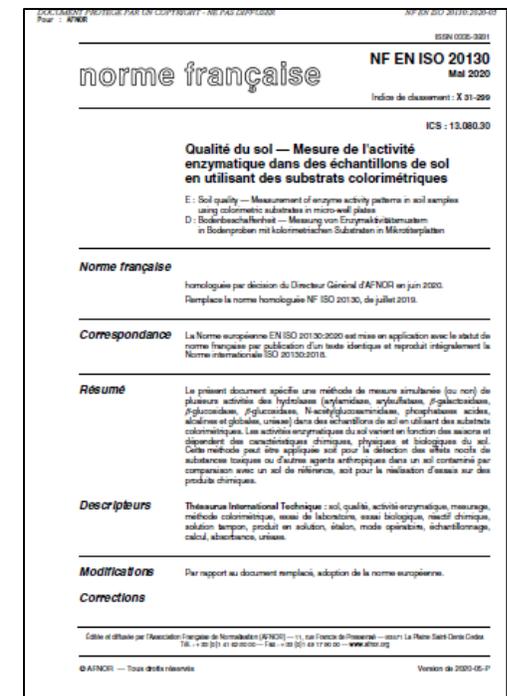
- **Difficulté d'interprétation, de comparaison (et de conseil)**

La stratégie mise en œuvre par la plateforme Biochem-Env

- 1. Déployer une méthode de mesure performantes et reconnue > normalisation ISO**
- 2. Disposer d'un grand nombre de mesures**
- 3. Organiser la gestion des données et métadonnées**
- 4. Développer le référentiel de biodiversité fonctionnelle des sols**
- 5. Développer les outils d'interprétation et de cartographie**

La norme NF EN ISO 20130

- 2014/02 : proposition à l'AFNOR T95E du projet « Mesure de l'activité enzymatique dans des échantillons de sol en utilisant des substrats colorimétriques » en complément de la norme ISO 22939 (substrats fluorogènes)
- 2014/10 : NWIP discuté à l'ISO (Berlin)
- 2016 : réalisation de l'essai interlaboratoire international
- 2018 : publication de la norme ISO 20130:2018
- 2020 : norme reprise en EN et NF
- 2022 : publication de l'article « ring test »



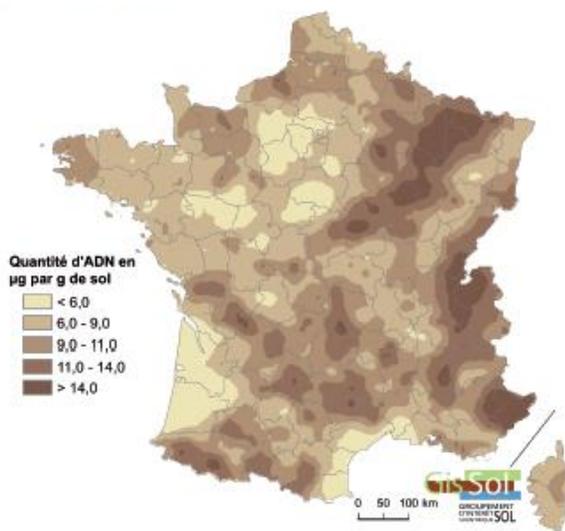
Quel intérêt pour les chercheurs ?

(Combattre les idées reçues)

Fiabiliser et valoriser ses résultats

- Développer et utiliser des méthodes de qualité, fiables, qui garantissent la cohérence et la comparaison des résultats
- Valoriser ses méthodes en les disséminant au sein de la communauté de recherche (académique et privée)
- Disposer d'un grand nombre de mesures pour créer des référentiels

RMQS : ISO 11063:2020



Source : Gis Sol-programme ANR Ecomic-RMQS, 2010 ; IGN, Geofis@, 2006 ; Dequiedt et al., 2010.

Note : La biomasse mesurée correspond à la quantité d'ADN extrait des échantillons de sols du RMQS.

GenoSOL
PLATEFORME

Biochem3ENV

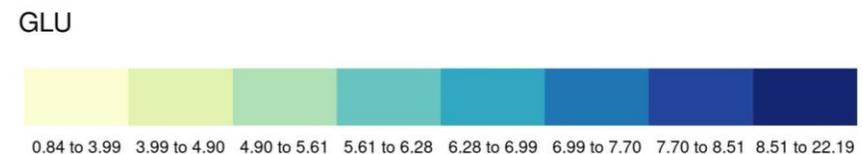
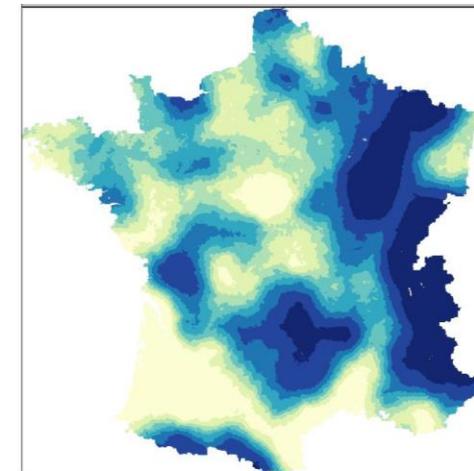
Mapping and predictive variations of soil bacterial richness across France

Sébastien Terrat , Walid Horrigue , Samuel Dequiedt, Nicolas P.A. Saby, Mélanie Lelièvre, Virginie Nowak, Julie Tripied, Tiffanie Régner, Claudy Jolivet, Dominique Arrouays, Patrick Wincker, Corinne Cruaud, Battle Karimi, [...], Lionel Ranjard 

Published: October 23, 2017 • <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186766>

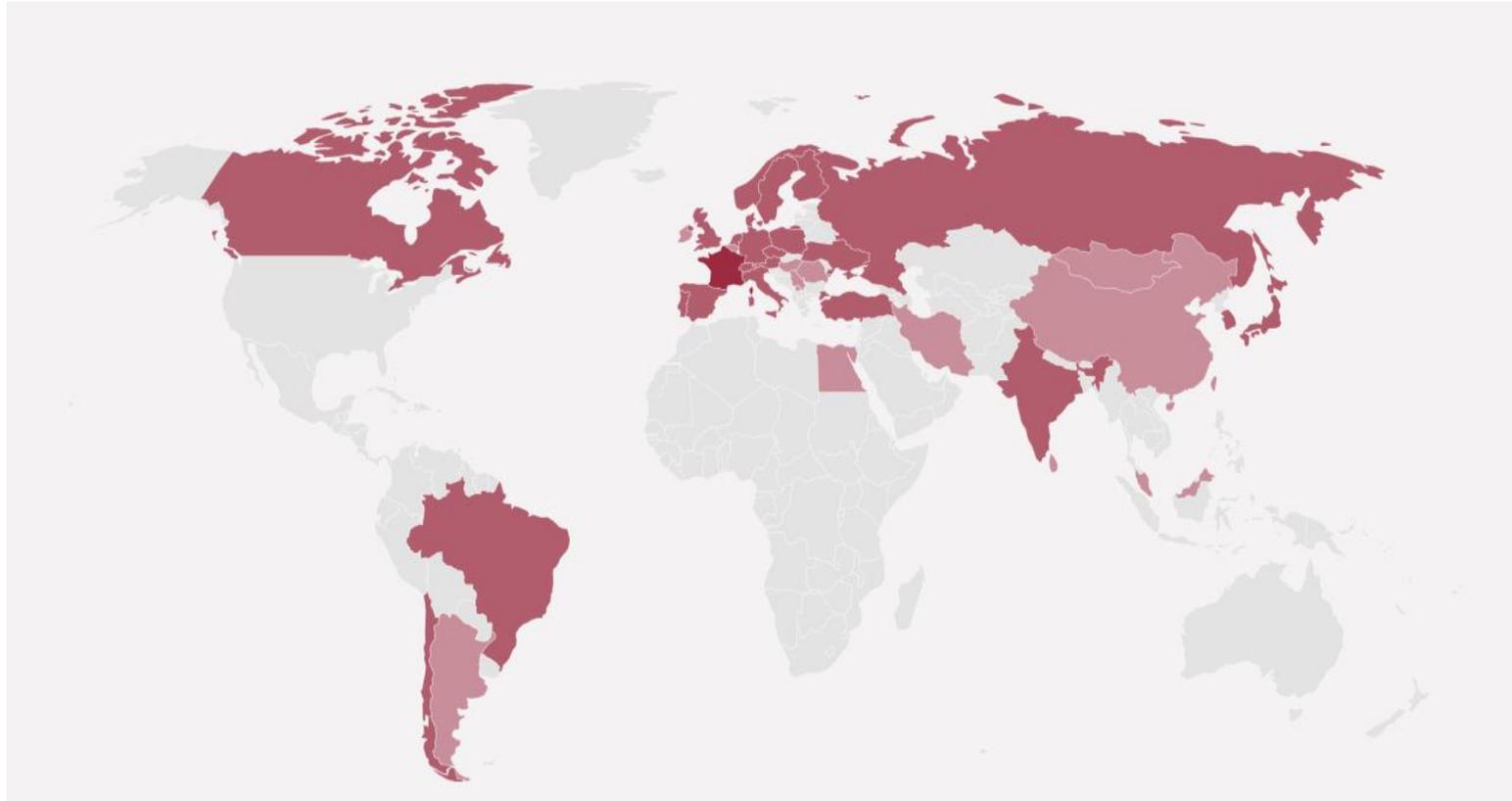
GisSol

RMQS2: ISO 20130:2018



Développer son réseau

SC4 : 24 membres participants et 12 observateurs en 2024



Austria (ASI), Brazil (ABNT), Canada (SCC), Chile (INN), Czech Republic (UNMZ), Denmark (DS) Finland (SFS), France (AFNOR), Germany (DIN), India (BIS), Italy (UNI), Japan (JISC), Republic of Korea (KATS), Netherlands (NEN), Norway (SN), Poland (PKN), Portugal (IPQ) (Russian Federation (GOST R)), Spain (UNE), Sweden (SIS), Switzerland (SNV), Turkey (TSE), Ukraine (DSTU), United Kingdom (BSI)

Conclusions

- **La normalisation de méthodes s'inscrit pleinement dans l'activité de recherche**
- **Elle permet la valorisation des compétences des chercheurs**
- **Elle offre des outils en appui des politiques publiques**

- **Rejoignez les structures de normalisation !**

Merci pour votre attention!