
**Qualité de l'eau — Lignes directrices
relatives aux dosages immunologiques
sélectifs pour la détermination des agents
de traitement des plantes et des pesticides**

*Water quality — Guidelines for selective immunoassays for the
determination of plant treatment and pesticide agents*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15089:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9a51f19db855/iso-15089-2000>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 15089:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9a51f19db855/iso-15089-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9a51f19db855/iso-15089-2000>

© ISO 2000

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 734 10 79
E-mail copyright@iso.ch
Web www.iso.ch

Imprimé en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Interférences	4
5 Principe	4
6 Réactifs	4
7 Appareillage	5
8 Échantillonnage et préparation des échantillons	5
9 Mode opératoire	6
10 Critères de validité	8
11 Évaluation et expression des résultats	8
12 Fidélité	9
13 Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Organigramme et plan de pipettage	11
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	13
Bibliographie	14

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments de la présente Norme internationale peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 15089 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 2, *Méthodes physiques, chimiques et biochimiques*.

Les annexes A et B de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

ISO 15089:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9a51f19db855/iso-15089-2000>

Qualité de l'eau — Lignes directrices relatives aux dosages immunologiques sélectifs pour la détermination des agents de traitement des plantes et des pesticides

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie des lignes directrices pour l'analyse quantitative sélective, par des dosages immunologiques, des produits chimiques utilisés dans l'environnement, tels que les pesticides (y compris les insecticides) ou leurs métabolites présents dans l'eau potable, l'eau souterraine et l'eau de surface.

Le présent mode opératoire pour l'analyse des pesticides dans l'eau potable est applicable à des concentrations en masse $\geq 0,05 \mu\text{g/l}$. En conséquence, il convient que, dans ce cas, la limite de détermination soit $\leq 0,05 \mu\text{g/l}$.

2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 5667-1:1980, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 1: Guide général pour l'établissement des programmes d'échantillonnage.*

ISO 5667-2:1991, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 2: Guide général sur les techniques d'échantillonnage.*

ISO 5667-3:1994, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 3: Guide général pour la conservation et la manipulation des échantillons.*

ISO/TR 13530, *Qualité de l'eau — Guide de contrôle qualité analytique pour l'analyse de l'eau.*

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1 affinité

degré de liaison de l'anticorps à l'analyte

NOTE Le degré est défini par la constante d'équilibre (K) de la réaction $\text{Ab} + \text{H} = \text{AbH}$, où Ab est le site récepteur de l'anticorps et H = haptène; K est donné par l'équation de l'action massique $K = c_{\text{AbH}} / (c_{\text{Ab}} \times c_{\text{H}})$.

3.2

analyte

substance à déterminer

3.3

anticorps

protéines de sérum sécrétées par les vertébrés après introduction d'un antigène dans l'organisme réagissant à l'agression et qui fixent l'antigène ou l'haptène, respectivement, de façon sélective

NOTE 1 Les anticorps monoclonaux (mAb) sont des populations uniformes d'anticorps issues du clone d'une cellule unique de cellules hybridomes.

NOTE 2 Les anticorps polyclonaux (pAb) sont une population mixte d'anticorps sécrétée par plusieurs clones de cellules de plasma.

NOTE 3 Les anticorps recombinés (rAb) sont produits grâce aux techniques de recombinaison en vigueur dans le génie génétique.

3.4

anticorps conjugué

anticorps lié par covalence à un marqueur tel qu'une enzyme ou un fluorochrome

3.5

antigène

substance qui stimule la production d'anticorps et qui réagit à leur contact

3.6

immunosérum

sérum sanguin de vertébrés immunisés, obtenu après élimination des composés cellulaires et des facteurs de coagulation

NOTE Il contient généralement un certain nombre d'anticorps différents qui peuvent présenter diverses affinités par rapport à l'antigène/haptène.

3.7

conjugué sur support sensibilisé

macromolécule liée à l'haptène (également appelée conjugué support d'haptène) et immobilisée sur une phase solide

NOTE Il est utilisé pour lier les sites anticorps non occupés par l'analyte.

3.8

dosage immunologique par compétition

essai qui permet de détecter la proportion de sites anticorps ayant été occupés par l'analyte de l'échantillon

NOTE Pour cela, un traceur est ajouté qui va occuper les sites disponibles de l'anticorps, et après une nouvelle réaction générera le signal à mesurer.

3.9

réaction croisée

réaction d'un anticorps ou d'un immunosérum avec une substance dont la structure diffère de l'analyte

NOTE 1 La réaction croisée d'un anticorps ou d'un immunosérum avec cette substance est déterminée en comparant les courbes d'étalonnage. La courbe de référence obtenue avec l'analyte est utilisée comme grandeur de référence (= réaction croisée à 100 %). La réaction croisée est généralement déterminée à une concentration inhibitrice CI_{50} . La sélectivité d'un anticorps ou d'un immunosérum est inversement proportionnelle aux réactions croisées. Un anticorps ou un immunosérum peut respectivement présenter diverses affinités avec différentes substances. Avec une substance donnée, la réaction croisée d'un immunosérum peut également varier au sein de l'étendue de mesure. Généralement, la sélectivité d'un immunosérum (appelée spécificité) est principalement déterminée par la structure de l'immunogène. Lorsque les réactions croisées sont dues à une population mixte d'anticorps, ce qui est fréquent pour un immunosérum, il est admis d'éliminer les anticorps indésirables par absorbance croisée.

NOTE 2 Tous les composés (présents à des concentrations importantes) qui présentent une réaction croisée donneront lieu à des résultats faux positifs.

3.10

dosage immunoenzymatique

EIA

analyse immunochimique qui détecte, à l'aide d'un traceur (un haptène à marqueur enzymatique ou un anticorps à marqueur enzymatique), l'occupation de sites anticorps par l'analyte et qui peut par conséquent être utilisée pour détecter la concentration de l'analyte dans le milieu

NOTE La procédure de détection est fondée sur la mesure de l'activité enzymatique du traceur par conversion du substrat.

3.11

substrat enzymatique

substance transformée par l'enzyme en produit détectable par un système de mesure

3.12

étalon par excès

étalon caractérisé par une valeur limite de concentration de l'analyte, au-delà de laquelle il ne se produit plus de réduction du signal mesuré au cours du dosage immunologique

3.13

dosage immunologique par fluorescence

procédure de détection immunochimique appliquée soit en tant que dosage immunologique avec des substrats ou des produits fluorescents, ou en tant que dosage immunologique avec des traceurs ou des anticorps à marqueur fluorescent

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

3.14

haptène

substance qui, du fait de son faible poids moléculaire, ne peut susciter la formation d'anticorps à moins d'être liée par covalence à un immunogène

[ISO 15089:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9c8189db855/iso-15089-2000)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/68cdac9e-b932-4e94-b7c7-9c8189db855/iso-15089-2000)

NOTE Les pesticides sont un exemple d'haptènes.

3.15

dosage immunologique hétérogène

essai nécessitant la séparation des traceurs liés et non liés à la phase solide afin de détecter les sites de l'anticorps occupés par l'analyte et par voie de conséquence la concentration de l'analyte dans l'échantillon

3.16

dosage immunologique

dosage quantitatif fondé sur «l'attraction» de l'analyte/anticorps et qui utilise des traceurs pour la détection des sites de l'anticorps, respectivement libres ou occupés

3.17

immunogène

substance qui, après injection, déclenche chez un vertébré une réaction immunitaire

3.18

concentration inhibitrice

CI

concentration de l'analyte qui réduit le signal de mesure de l'étalon zéro (= 100 %) dans le cas de CI₅₀ à 50 % de sa valeur

3.19

dosage immunologique par luminescence

LIA

dosage immunochimique réalisé soit en tant que dosage immunologique détecteur de substrats ou de produits luminescents, soit en tant que dosage immunologique de traceurs à marqueur luminescent

3.20

immunoessai en phase solide

dosage immunologique hétérogène qui utilise (selon le type d'essai) des anticorps ou des conjugués sur support sensibilisés immobilisés sur une phase solide

NOTE Les deux types d'essai, lorsqu'ils utilisent des traceurs à marqueur enzymatique, sont plus généralement connus sous le nom de technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

3.21

traceur

haptène (ou antigène) marqué ou anticorps marqué qui, dans le cas de dosage immunologique par compétition, est utilisé pour détecter le pourcentage de sites anticorps non occupés par l'analyte

3.22

étalon zéro

étalon sans analyte (blanc de méthode) utilisé pour l'étalonnage

4 Interférences

Les interférences ont pour origine un échantillonnage incorrect, dû par exemple au choix des équipements ou des matériaux qui adsorbent ou libèrent les substances à analyser. Les conditions de dosage, par exemple le pH ou les composés de l'échantillon tels que les ions métalliques, les acides humiques, la salinité et les solvants, qui provoquent des interférences avec les composés de l'essai (par exemple des effets de matrice), peuvent affecter l'analyse. L'influence des effets de matrice peut être évaluée en dopant l'échantillon avec des quantités connues de l'analyte.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5 Principe

ISO 15089:2000

Les dosages immunologiques sont des méthodes qui utilisent des anticorps produits par rapport à des analytes donnés ou des groupes d'analytes définis comme des sondes biochimiques pour la quantification des concentrations d'analytes. Ces dosages sont particulièrement utiles comme essai de «screening». Tous les dosages immunologiques pour la détection des haptènes sont fondés sur le principe du dosage immunologique par compétition. Les dosages concernant les pesticides ont fait l'objet de rapports (voir les références [1] à [4] dans la bibliographie). Une procédure type, à titre d'exemple d'EIA, est décrite ci-après.

La variante en phase solide requiert soit des anticorps immobilisés et des traceurs haptènes dissous [variante a), dosage immunologique direct], soit un conjugué sur support sensibilisé et des traceurs anticorps dissous [variante b), dosage immunologique indirect] en rapport constant. Les anticorps sont appliqués en quantité limitée. Par conséquent, les composants non liés à la phase solide sensibilisée peuvent être éliminés par lavage avant la détection finale. Ceci comprend également la plupart des effets de matrice interférents. Plus les molécules traceurs sont liées, plus la concentration de l'analyte dans l'échantillon est faible.

L'immobilisation peut être obtenue par adsorption passive ou par fixation par liaison covalente aux groupes fonctionnels de la phase solide.

L'étalonnage est réalisé avec des solutions de concentrations d'analyte connues.

6 Réactifs

6.1 Généralités

Utiliser des réactifs et de l'eau de haute pureté (par exemple «pour analyse des résidus»). Des informations relatives, respectivement, au type et à l'origine des anticorps ou des immunosérums, ainsi qu'aux réactions croisées doivent être consignées dans le rapport d'essai. Des informations relatives au stockage et à la stabilité des réactifs utilisés doivent être demandées au fournisseur. La sélectivité des anticorps ou respectivement des

immunosérums doit garantir que les concentrations d'échantillon, déduites d'une courbe d'étalonnage, ne s'écartent pas de plus de $\pm 10\%$ des concentrations réelles de l'analyte dans ces échantillons. Lorsque les spécificités, respectivement, des anticorps ou respectivement des immunosérums sont faibles, l'analyte interférent doit être éliminé des échantillons selon des procédures chimiques et physiques appropriées. Les anticorps croisés d'un immunosérum peuvent être éliminés par absorbance croisée.

6.2 Solution de lavage tampon, utilisée pour le lavage (PBS; pH 7,6) avec une concentration de phosphate de 80 mmol/l (préparé avec NaH_2PO_4 et Na_2HPO_4) et une concentration de chlorure de sodium de 85 g/l.

6.3 Acide, par exemple acide sulfurique, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1 \text{ mol/l}$, pour ajuster le pH et arrêter la réaction enzymatique.

6.4 Base, par exemple hydroxyde de sodium, $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$, pour ajuster le pH et arrêter la réaction enzymatique.

7 Appareillage

7.1 Phase solide, constituée de plastique, de verre ou de particules magnétiques, pour les dosages immunologiques hétérogènes, comme par exemple des microplaques, des tubes à essai, des perles de verre, des particules magnétiques ou des membranes.

7.2 Multipipettes, par exemple des pipettes de volume variable de 10 μl à 500 μl , des pipettes à volume fixe de 10 μl , 100 μl , 200 μl , des pipettes à canaux multiples, de 300 μl par exemple, et des distributeurs.

7.3 Support magnétique, utilisé lors de la phase de lavage des dosages immunologiques lorsque les anticorps sont liés à des particules ferromagnétiques.

8 Échantillonnage et préparation des échantillons

8.1 Échantillonnage

Réaliser l'échantillonnage conformément à l'ISO 5667-1, l'ISO 5667-2 et l'ISO 5667-3. Le dosage immunologique est généralement réalisé avec des échantillons d'eau bruts. Si nécessaire, il est recommandé d'effectuer un traitement préalable de l'échantillon. Il est possible de concentrer les échantillons par des procédés physico-chimiques appropriés.

8.2 Sensibilisation des phases solides

Les phases solides sensibilisées peuvent être obtenues dans le commerce, sinon il convient de les préparer pour les dosages immunoenzymatiques comme suit:

- Incubation de solutions diluées d'anticorps ou respectivement d'immunosérum, dans une solution tampon appropriée, par exemple tampon carbonate à 50 mmol/l (pH 9,6), préparé avec Na_2CO_3 et NaHCO_3 . Cela est parfois appelé méthode ELISA à détection directe.
- Sensibilisation des phases solides avec un conjugué support d'haptène avant le début du dosage. Cela est parfois appelé méthode ELISA à détection indirecte.

En général, les protéines assurent le rôle de supports. Après la sensibilisation et la phase de lavage, il peut s'avérer nécessaire pour certains dosages de bloquer les sites de liaison non spécifiques. De plus, il est nécessaire de préparer une série d'étalons des pesticides concernés, par exemple dans de l'eau distillée.

8.3 Traceur enzymatique

Les traceurs haptène-enzyme (méthode ELISA directe) ou les traceurs anticorps-enzyme (méthode ELISA indirecte) utilisés pour le dosage immunoenzymatique sont soit préparés juste avant leur utilisation dans une dilution appropriée dans une solution tampon, soit fournis par le fournisseur sous une forme stabilisée prête à l'emploi. Le substrat enzymatique est préparé juste avant l'utilisation en dissolvant un ou plusieurs composés dans la solution tampon ou il peut être obtenu du fournisseur sous une forme stabilisée.

8.4 Solutions

Les solutions de lavage de la phase solide (voir 9.1.2) ainsi que les acides ou les bases appropriés pour l'arrêt de la réaction enzymatique (voir 9.1.3) sont également préparés avant le début des mesurages.

8.5 Préparation des échantillons

Tous les échantillons d'eau, réactifs, solutions, équipement et phases solides sensibilisées sont portés à une température déterminée avant le début du dosage. La réaction enzymatique est effectuée à température constante ($\pm 0,5$ °C) comprise entre 20 °C et 37 °C. Si le pH des échantillons d'eau ne se situe pas dans la gamme de 7,0 à 7,5 ou autre valeur appropriée au dosage, il convient de procéder à un ajustement du pH (par exemple avec NaOH ou H₂SO₄).

Les calculs doivent tenir compte de la dilution des échantillons.

9 Mode opératoire

iTeh STANDARD PREVIEW

IMPORTANT — Il est essentiel que les essais conduits selon la présente Norme internationale soient effectués par un personnel convenablement qualifié.

Lorsque la présente méthode est appliquée, il convient de vérifier dans chaque cas (selon la tâche), si des conditions supplémentaires particulières sont nécessaires et dans quelle mesure.

9.1 Dosage immunoenzymatique direct [avec traceurs haptène-enzyme, variante a)]

9.1.1 Réaction de liaison

Combiner l'étalon ou l'échantillon d'eau, respectivement, ainsi que le traceur (voir 8.3) dans des dilutions appropriées, avec la phase solide sensibilisée. Incuber dans l'obscurité jusqu'à ce que la réaction immunologique soit terminée, ce qui prend en général 30 min à 60 min.

9.1.2 Phase de lavage

Éliminer la part des étalons, des échantillons et du traceur qui n'ont pas été liés au cours de la réaction de liaison, en lavant plusieurs fois avec une solution de lavage tampon (par exemple PBS, voir 6.2).

9.1.3 Réaction enzymatique

Au cours d'une étape ultérieure, le traceur enzymatique lié à l'haptène convertit un substrat supplémentaire.

Choisir la période d'incubation ainsi que la concentration de substrat afin qu'avec la concentration de traceur donnée, le substrat ne soit pas complètement converti. Arrêter la réaction enzymatique soit pour déterminer le point final en ajoutant l'acide (6.3) ou la base (6.4) après la période d'incubation, ou mesurer en continu.

9.1.4 Détermination du substrat de conversion

Le substrat de conversion est déterminé par une méthode instrumentale appropriée. Un guide sur le choix du matériel approprié est généralement fourni avec les kits IA disponibles dans le commerce.

9.1.5 Exemple de dosage immunologique direct

NOTE Il est admis de réaliser un dosage immunologique direct comme illustré dans l'organigramme et dans le plan de pipettage donnés dans l'annexe A.

9.1.5.1 Réaction de liaison

Pipetter 200 µl d'étalon ou respectivement d'échantillon individuellement dans un nombre approprié de puits sensibilisés de microplaques. Préparer une dilution appropriée (effectuée en deux étapes successives si nécessaire) d'un traceur peroxydase.

Ajouter tout d'abord 10 µl du traceur à 10 ml de la solution de lavage tampon (6.2) dans une dilution de 1:1000 en volume. Introduire, à l'aide d'une pipette, 50 µl de dilution de traceur peroxydase dans chaque puits. Mélanger la solution étalon ou l'échantillon d'eau respectivement ainsi que le traceur, dans un agitateur vertical pendant 30 s ou en effectuant avec soin des mouvements circulaires de la plaque.

Envelopper la plaque d'une feuille d'aluminium et incuber à température constante, par exemple à 20 °C, pendant 1 h.

9.1.5.2 Phase de lavage

Après la période d'incubation, il convient de laver trois fois la plaque avec 300 µl de solution de lavage tampon par puits, avec un appareil de nettoyage de microplaques (ou manuellement). Retirer la solution de lavage tampon restant après le dernier lavage en tapotant la plaque sur un tissu (en coton).

9.1.5.3 Réaction enzymatique

Après avoir préparé le substrat enzymatique, déclencher le chronomètre et introduire, à l'aide d'une pipette, par rangée, 200 µl de substrat dans chaque puits au rythme de 10 s ou 15 s.

Après un temps de réaction de 10 min, ajouter 100 µl d'acide (6.3) par puits dans le même ordre et au même rythme. Si, 10 min après l'incubation du substrat, la solution étalon zéro ne se colore pas, il convient de retarder la fin de la réaction. Après avoir ajouté de l'acide (6.3) dans chaque puits, on remarque que la couleur passe du bleu au jaune. Un mélange homogène est obtenu en effectuant avec soin un mouvement circulaire de la plaque.

9.1.5.4 Mesurage de l'absorbance

Les absorbances sont mesurées à l'aide d'un photomètre vertical pour microplaques à une longueur d'onde définie (par exemple 450 nm), variable selon le produit de la réaction enzymatique. Les puits dans lesquels se trouvent les étalons zéro donnent généralement des valeurs d'absorbance comprises entre 1,0 et 1,5.

Le résultat de la détermination des concentrations d'échantillons dépend essentiellement de la précision de l'étalonnage (voir l'article 10). Par conséquent, plusieurs mesurages sont généralement effectués afin d'obtenir des coefficients de variation (CV) d'environ 10 %. Les moyennes sont utilisées pour des calculs ultérieurs. Les concentrations d'échantillons qui dépassent l'étendue de mesure (domaine de la courbe d'étalonnage) ne peuvent être prises en compte.

9.2 Mesurage de l'étalon zéro

Effectuer, avec chaque série de mesures, un étalon zéro (blanc de la méthode) pour vérifier tout problème lié aux équipements et aux produits chimiques.

Pour le mesurage de l'étalon zéro, préparer et analyser l'eau (6.1) comme tout autre échantillon réel.

Si les étalons zéro se situent au-delà de la limite de détection, l'erreur doit être localisée par des recherches systématiques afin d'éliminer la source de contamination. Il convient de rejeter les résultats obtenus à partir de lots d'échantillons comportant cet étalon zéro.