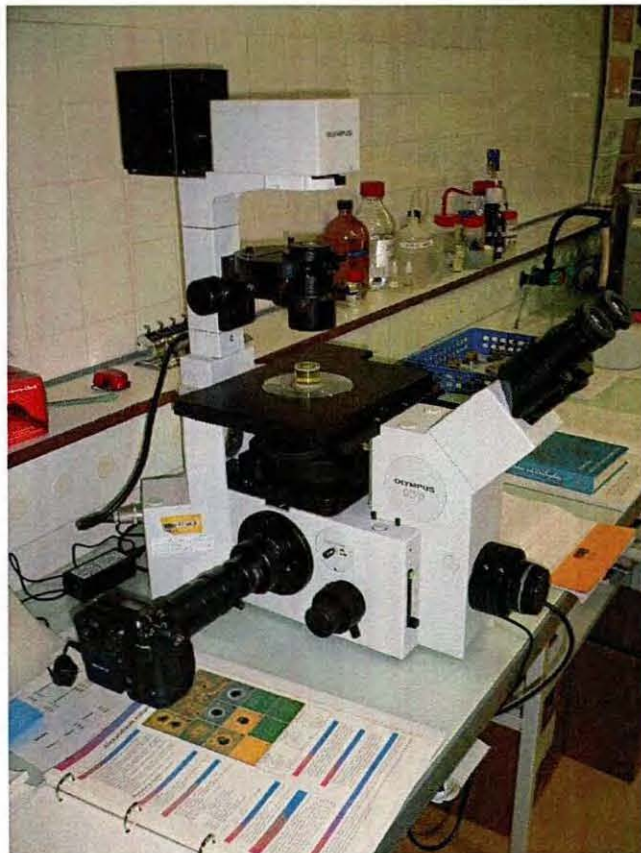


Essai interlaboratoires pour le dénombrement phytoplanctonique par la méthode d'Utermhöl



Essai interlaboratoires pour le dénombrement phytoplanctonique par la méthode d'Utermöhl

sommaire

1. Objectifs et limites de l'intercalibration	5
2. Mise en œuvre de l'EIL	6
2.1. Principe.....	6
2.2. Laboratoires participants à l'EIL	8
2.3. Rendu des résultats.....	8
3. Stratégie de comptage des opérateurs	9
3.1. Effort de comptage : volumes lus.....	10
3.2. Effort de comptage : nombre de cellules comptées.....	12
4. Résultats des comptages, choix de la méthode de détermination de la valeur assignée.....	14
5. Résultats des laboratoires participants.....	17
5.1. Résultats bruts.....	17
5.2. Résultats traités.....	18
5.3. Signaux d'action et d'avertissement.....	20
6. Discussion et conclusion.....	21
7. Annexes	23
7.1. Lettre d'envoi de l'EIL aux laboratoires participants	23
7.2. Résultats des comptages	26

1. Objectifs et limites de l'intercalibration

La mise en œuvre d'un réseau de surveillance phytoplanctonique et les interprétations auxquels les résultats donnent lieu, ainsi que les choix et les options à prendre en vue d'une gestion adaptée des activités maritimes nécessitent la prise en compte des multiples composantes qui peuvent jouer sur la signification réelle du résultat.

Ainsi, un résultat de dénombrement cellulaire planctonique (ie nombre de cellules de telle ou telle espèce par litre d'eau de mer) est-il censé qualifier et quantifier une caractéristique recherchée pour une masse d'eau.

Sa signification dépendra de la représentativité du lieu de l'échantillonnage et du moment du prélèvement vis à vis de la stabilité ou de l'instabilité spatio-temporelle de la masse d'eau (le prélèvement consiste souvent en un volume d'eau de l'ordre du litre).

Elle dépendra aussi de la représentativité du sous-échantillonnage qui va faire l'objet de la présente intercalibration : le sous-échantillon qui est analysé a un volume déterminé par celui de la chambre à sédimentation (le plus souvent 10 ml), et c'est la stratégie de comptage de l'analyste qui détermine alors le volume réel faisant l'objet du comptage cellulaire.

Cette pratique habituelle des opérateurs impliqués dans ce type d'analyse est aujourd'hui décrite, pour les opérateurs du REPHY, dans le « Manuel d'observation et de dénombrement du phytoplancton marin » - document de méthode REPHY, qui s'inspire de la norme NF EN 15204 : 2006.

Dans son introduction, cette norme précise : *« il n'est pas possible de fournir un seul mode opératoire normalisé pour l'évaluation de la composition et de l'abondance du phytoplancton, étant donné que les programmes de surveillance sous-jacents sont de caractères divers et exigent par conséquent des protocoles spécifiques. Par conséquent, l'objectif de la présente norme est de fournir des lignes directrices sur les aspects de base des analyses d'algues microscopiques et de fournir des modes opératoires statistiques pour la conception, l'optimisation et la validation de méthodes et de protocoles ».*

Quoiqu'il en soit, la norme NF EN 15204 s'adresse spécifiquement aux analyses de routine par microscopie inversée (méthode d'Utermöhl), telle que pratiquée par le REPHY, mais on notera qu'elle ne cite pas explicitement le recours à l'exercice d'intercalibration.

Le présent exercice interlaboratoires (EIL) a pour objectif de permettre aux laboratoires participants de se situer vis à vis de l'ensemble des résultats obtenus et de mener le cas échéant la réflexion en vue de l'optimisation de leurs pratiques.

Il s'inspire de la méthodologie d'intercalibration mise en œuvre par BEQUALM (Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes, programme européen initié en 1998), et l'interprétation des résultats est réalisée par l'adoption d'un outil statistique proposé par la norme NF ISO 13528 : 2005 intitulée « Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires ».



2. Mise en œuvre de l'EIL

Le présent EIL est organisé au niveau de la structure de coordination du REPHY, du département Environnement, Microbiologie et Phycotoxines du Centre Ifremer de Nantes, par Hubert Grosse, adjoint à la coordinatrice du REPHY.

2.1. Principe

Le choix retenu pour cet exercice est de proposer un comptage cellulaire aux laboratoires participants en les plaçant en **situation de fonctionnement normal d'analyse des échantillons** : trois flacons sont envoyés à chaque participant, auquel il est demandé de quantifier les populations de micro-algues présentes, et d'en exprimer les résultats comme cela est fait en routine dans le cadre du REPHY.

Les conditions de préparation des échantillons, de leur envoi et la forme pour le rendu des résultats sont précisées dans un courrier envoyé aux participants le 25 octobre 2006 (cf annexe 7.1) accompagné d'un accusé de réception pour les responsables de laboratoire et d'acceptation des conditions du test proposé.

L'objectif de l'exercice étant limité au dénombrement cellulaire, les espèces phytoplanctoniques utilisées sont identifiées et leur origine précisée : Il s'agit de trois diatomées et d'une dinophycée sélectionnées selon les critères de leur disponibilité, de leur taille et de leur forme, ainsi que de leur capacité à se présenter en cellules isolées, en colonies ou en agglomérats. Dans cet exercice, elles sont clairement identifiables et leur distinction ne prête pas à confusion :

- *Odontella aurita* : souche 122 entretenue à BM-PBA/Nantes
- *Skeletonema costatum* : souche de Bouin
- *Pseudonitzschia pungens* : mélange de trois clones de baie de Seine, isolés en 2005 (U595-1, U595-2, U595-3) entretenue à EMP-PHYC / Nantes
- *Alexandrium minutum* : souche AM89BM (Bretagne nord) entretenue à EMP-PHYC / Nantes

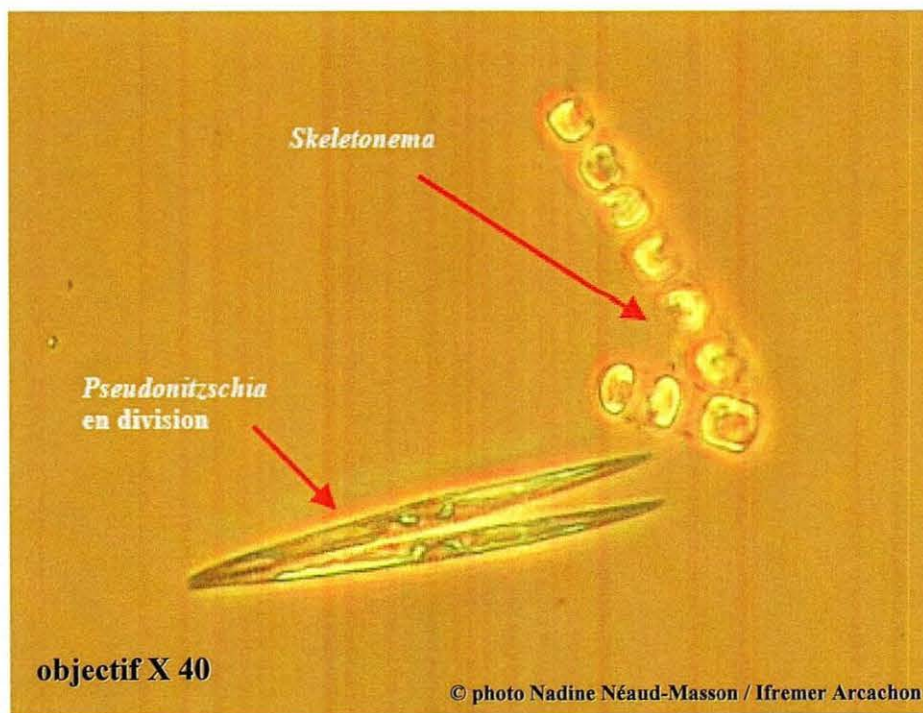
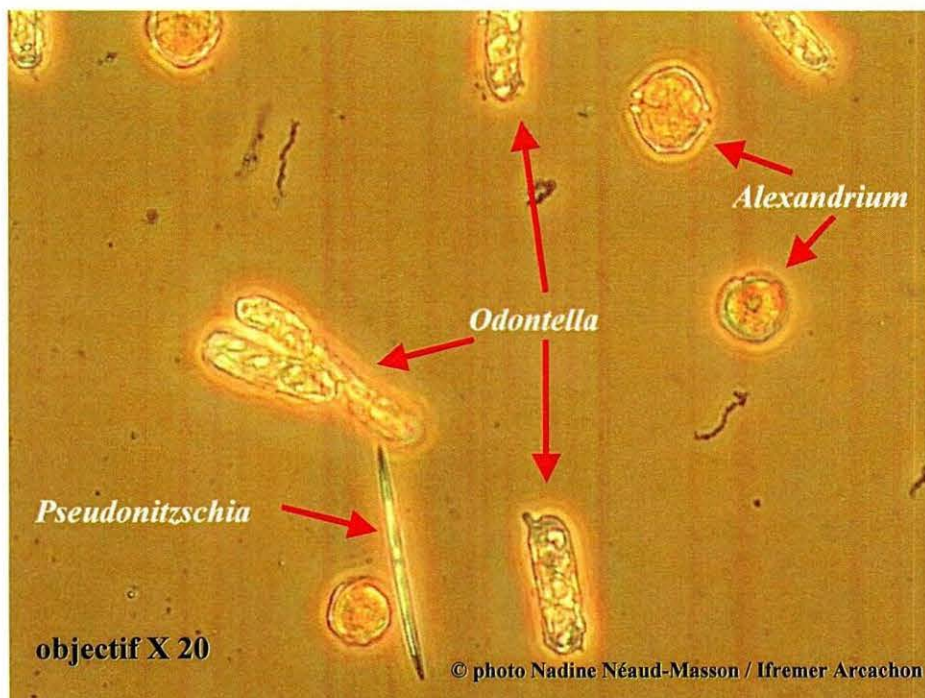
L'essai interlaboratoires porte sur l'analyse de 3 échantillons issus de mélanges A, B et C en part variable des 4 milieux de culture des micro-algues citées ci-dessus. Les mélanges sont préparés de façon à représenter des densités cellulaires comparables à celles observables en milieu marin, en allant de faibles concentrations (de l'ordre de 1000 cell./L) à des concentrations représentatives de situations de blooms (plusieurs millions de cell/L).

Au moment de la préparation, chaque mélange A, B et C, tenu le plus homogène possible par agitation permanente dans un ballon de 6 litres, est lugolé, puis transféré dans des flacons de 120 mL pour constituer des sous-échantillons d'environ 100 mL. Sont ainsi préparés une trentaine de flacons par mélange A, B et C.

La préparation des échantillons a eu lieu vendredi 20 octobre 2006, et l'envoi des échantillons s'est fait la semaine suivante par colissimo (chacun des laboratoires a donc reçu 3 flacons identifiés A_x, B_y, et C_z). Parmi les flacons préparés, dix de chaque mélange sont aléatoirement choisis pour faire l'objet d'un comptage spécifique réalisé par l'organisateur de l'EIL, afin d'établir une série de témoins permettant la prise en compte de la variabilité inter-échantillons avec un seul analyste.



Clichés des quatre espèces dénombrées :



2.2. Laboratoires participants à l'EIL

Il s'agit des 10 laboratoires Environnement Ressources (LER) de l'Ifremer suivants :

- Boulogne sur mer (LER-BL);
- Port en Bessin (LER-N);
- Concarneau (LER-CC) ;
- La Trinité sur mer (LER-MPL/TM) ;
- Nantes (LER-MPL/NT);
- L'Houmeau/La Rochelle (LER-PC/LR);
- Arcachon (LER-AR);
- Sète (LER-LR);
- Toulon (LER-PAC/TL);
- Bastia (LER-PAC/CO).

Et deux laboratoires extérieurs à l'Ifremer :

- Saint Pierre et Miquelon : Laboratoire vétérinaire de la Direction de l'Agriculture de Saint Pierre et Miquelon ;
- Mauritanie : laboratoire de microbiologie IMROP / Nouadhibou.

On a ainsi 12 laboratoires, représentés dans le présent rapport par un numéro aléatoire confidentiel allant de 1 à 12.

2.3. Rendu des résultats

Chaque laboratoire rend ses résultats selon le tableau suivant :

Laboratoire de		Date du comptage :		
Echantillon A, B ou C	Nombre de cellules comptées	Volume lu (mL)	Stratégie d'observation : - Cuve ou fraction de cuve - transect (nombre de -) - champs oculaires ...	Cellules/L
<i>Odontella aurita</i>				
<i>Skeletonema costatum</i>				
<i>Alexandrium minutum</i>				
<i>Pseudonitzschia pungens</i>				

Les résultats des dénombrements sont rassemblés et présentés en annexe 7.2

3. Stratégie de comptage des opérateurs

Tous les laboratoires ont utilisé pour les comptages des chambres de sédimentation (ou cuves) de 10 mL, ce qui est en cohérence avec la charge totale en cellules des mélanges A, B et C.

En moyenne, les comptages ont montré

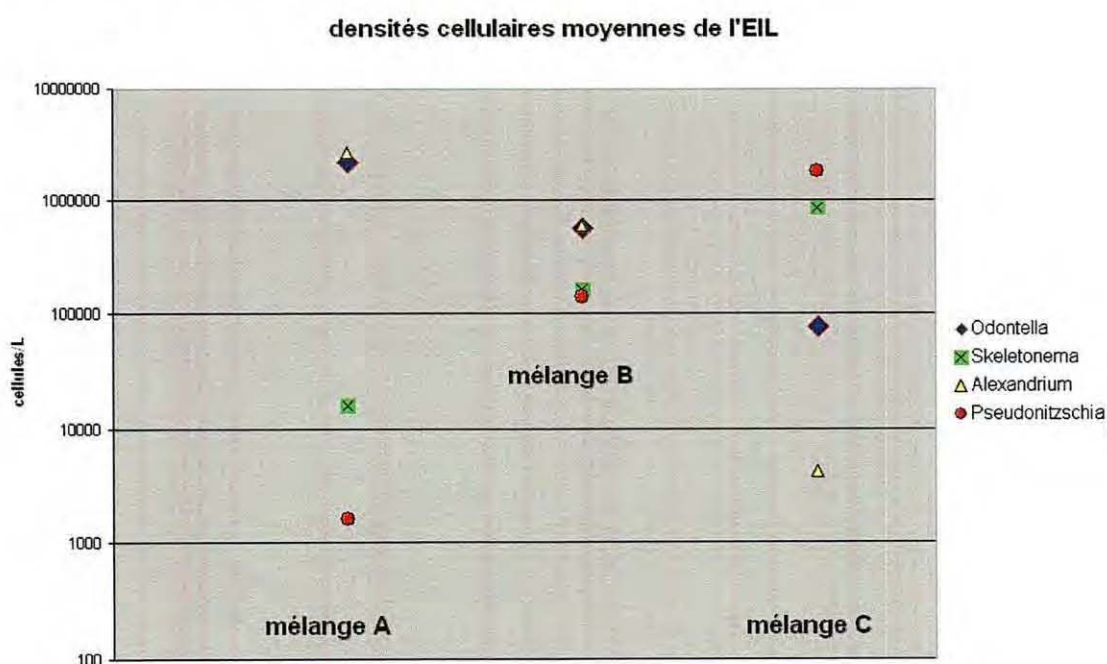
- $\sim 5 \cdot 10^6$ cell/L pour le mélange A
- $\sim 1,5 \cdot 10^6$ cell/L pour le mélange B
- $\sim 2,7 \cdot 10^6$ cell/L pour le mélange C

La stratégie de comptage par la méthode d'Utermhöl n'impose pas de méthodologie obligatoire pour l'acte de dénombrement. Il revient à l'opérateur, après examen rapide et à faible grossissement de la chambre de sédimentation, d'apprécier l'homogénéité de la répartition des micro-algues sédimentées, et d'adapter ensuite la stratégie de comptage des différentes populations à leur abondance et à leur mode de répartition sur la surface observée, selon cet examen préliminaire.

Ensuite, l'opérateur pourra privilégier différentes méthodes, en allant du comptage des cellules dans l'ensemble de la cuve pour les espèces à faible densité cellulaire, à un comptage partiel de la chambre. Dans ce cas, la méthode peut varier, et utiliser soit une portion de la cuve (1/2 cuve...), des transects ou des champs oculaires. Après comptage, l'opérateur dispose de tables de conversion (établies par le laboratoire) ramenant le comptage des cellules au nombre de cellules par litre.

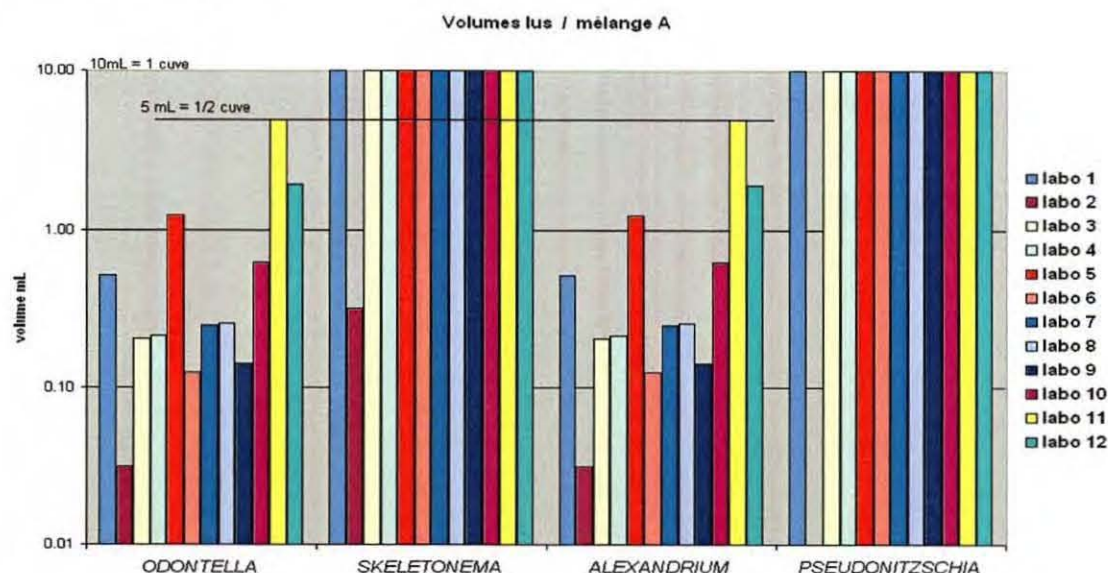
Le premier « survol » de la cuve donne donc à l'analyste une évaluation préliminaire de ce que peut être la grandeur d'ordre du résultat final, et lui permet de faire son choix de stratégie de comptage.

Le graphe ci-dessous présente la densité moyenne de toutes les analyses des laboratoires participants, et facilite la lecture des alinéas suivants.



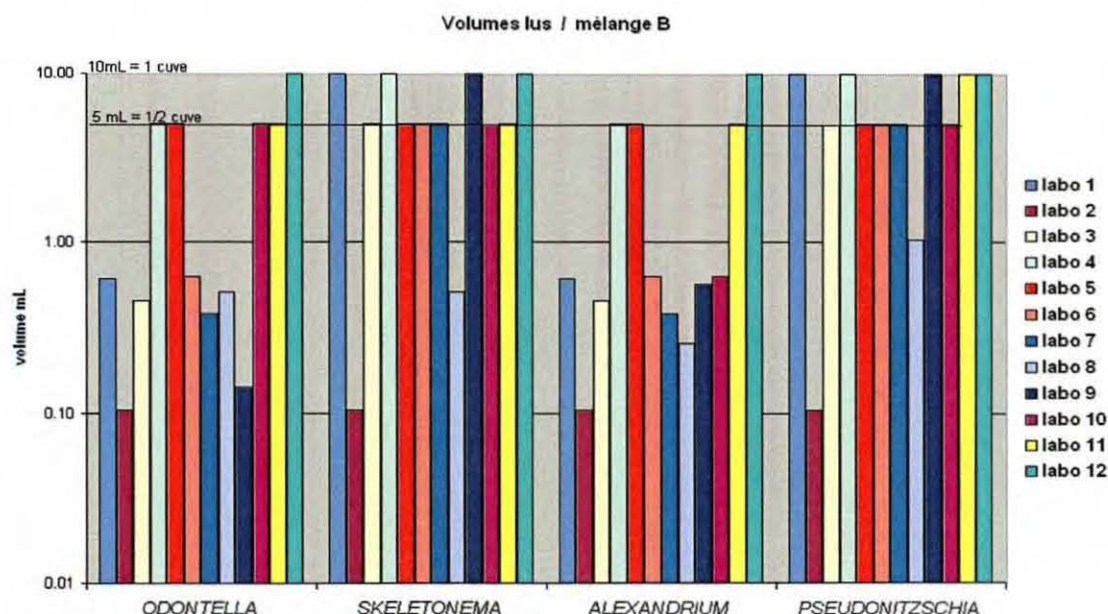
3.1. Effort de comptage : volumes lus

Les informations recueillies auprès des laboratoires participants ont permis de caractériser cet aspect de l'effort de comptage, que les graphiques ci-dessous présentent par mélanges A, B et C et par espèces :

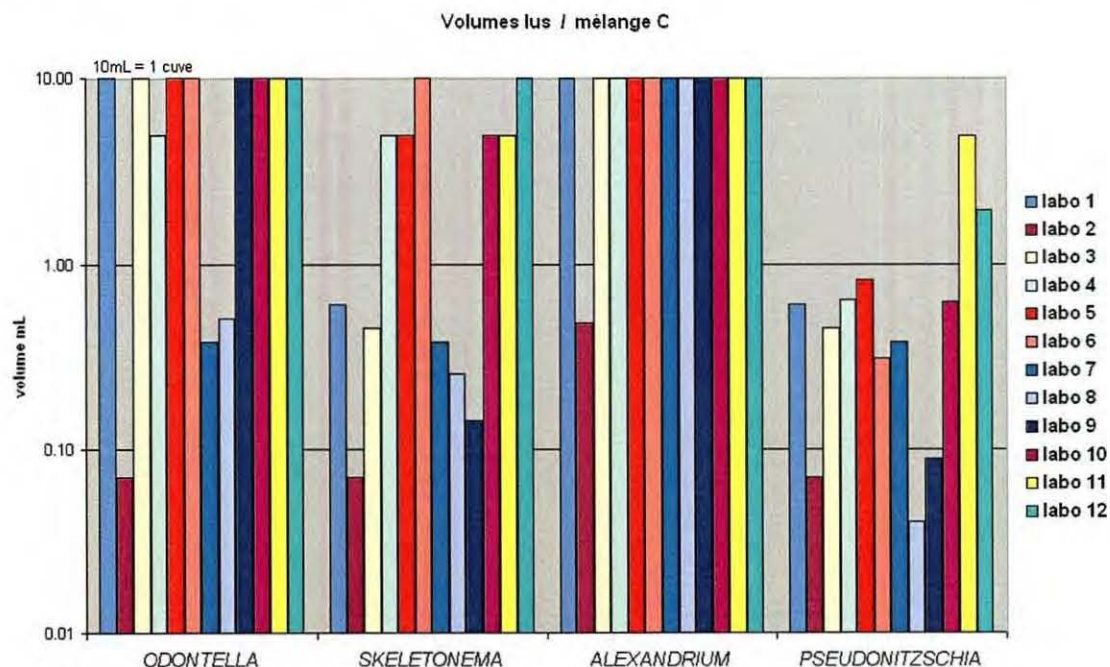


Ce graphe montre que les espèces les moins abondantes du mélange A (*Skeletonema* et *Pseudonitzschia*) ont fait en règle générale l'objet d'une recherche dans l'ensemble de la chambre (= cuve). A ce niveau de l'analyse, le laboratoire 2 n'a pas eu cette approche globale de la chambre à sédimentation, et n'ayant pas trouvé de *Pseudonitzschia* (cf. § suivant), n'a pas renseigné le volume lu ; au mieux, on peut considérer que le volume investigué pour *Pseudonitzschia* par ce laboratoire peut être assimilé à celui consacré à *Skeletonema*.

Pour les espèces plus abondantes (*Odonotella* et *Alexandrium*), la stratégie de comptage est alors propre à chaque laboratoire.



Le mélange B, qui contient des populations mieux équilibrées à des concentrations « moyennes », montre que seuls quelques laboratoires ont poussé les comptages pour certaines espèces sur une cuve entière, et qu'un certain nombre d'autres ont opté (pour certaines espèces) pour la demi-cuve.



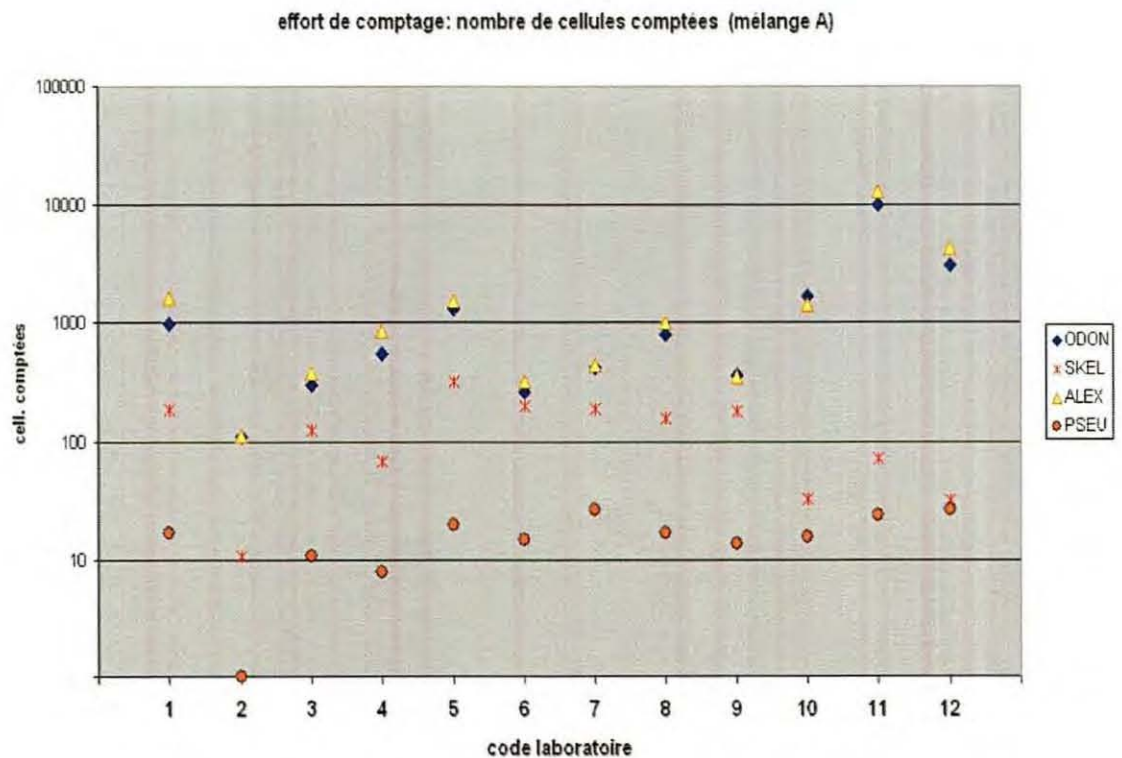
Le mélange C montre une démarche quasi générale pour un dénombrement d'*Alexandrium* sur la cuve entière.

En résumé, il convient de souligner dans cette analyse critique de l'« effort de comptage » la stratégie spécifique adoptée pour les cellules faiblement représentées, qui en règle très générale sont alors dénombrées sur la totalité du fond de la chambre, soit dans 10 mL. Cela a été particulièrement le cas de *Skeletonema* et de *Pseudonitzschia* pour le mélange A, d'*Alexandrium* pour le mélange C, et dans une moindre mesure pour *Odontella* pour le mélange C.

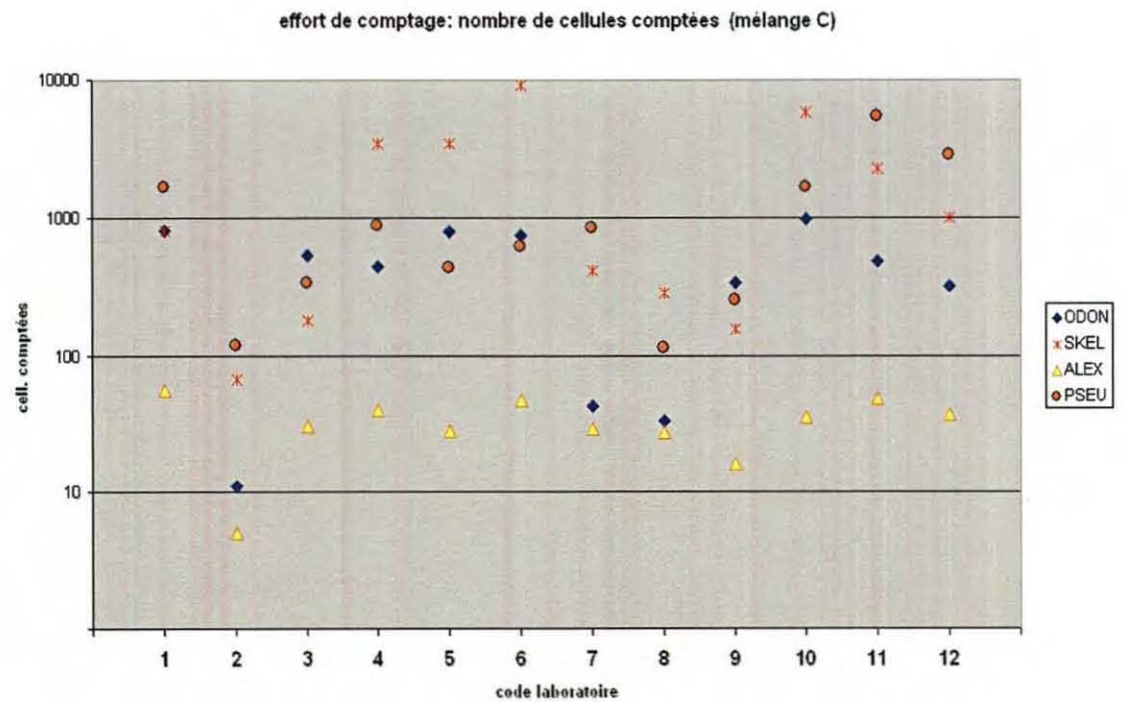
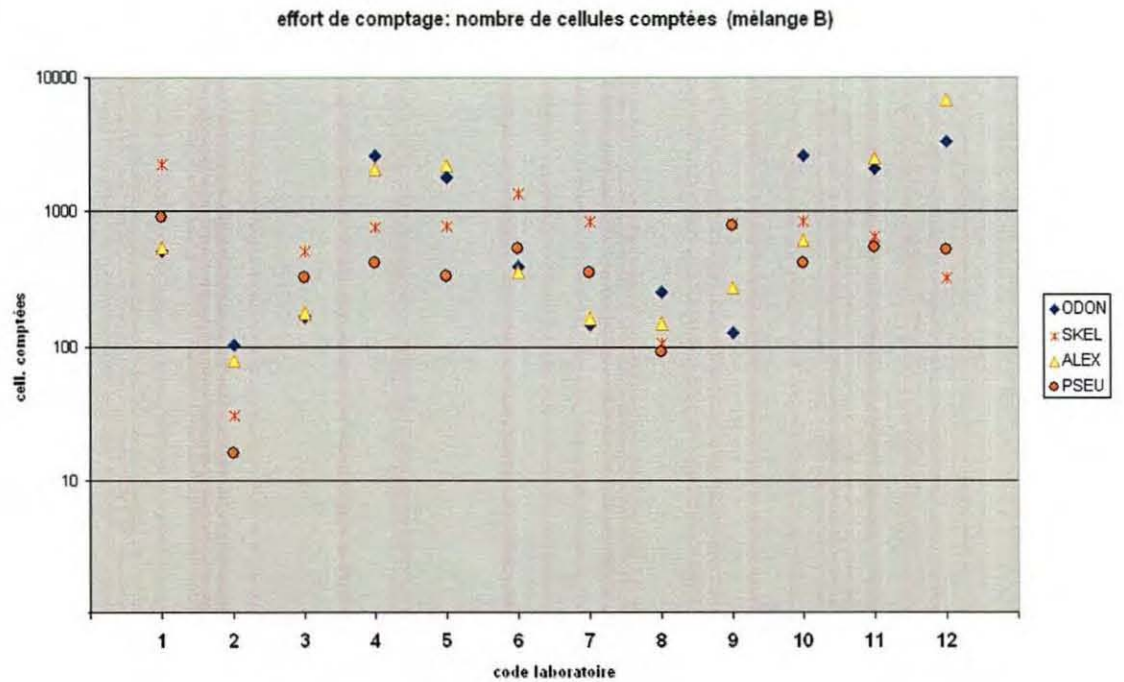
3.2. Effort de comptage : nombre de cellules comptées

En cas de distribution aléatoire des cellules sur la surface du fond de la chambre (ce qui est difficilement vérifiable dans le cadre de comptages de routine, situation de cet EIL), la précision des comptages est fonction du nombre d'objets comptés (on considère alors qu'avec 100 cellules comptées la précision est de l'ordre de 20%, et de 10% pour 400 cellules comptées). De plus, l'efficacité du comptage n'augmente ensuite que très peu en multipliant le dénombrement (on ne passera qu'à 6% de précision avec 1000 cellules comptées)¹.

Le nombre de cellules comptées est donc, après le volume lu, un bon descripteur de la stratégie adoptée, et de l'« effort de comptage ». Les informations recueillies auprès des laboratoires participants donnent la représentation graphique suivante :



¹ in Manual on Harmful Marine Microalgae, publications UNESCO 2002, part I – 4 : Estimating cell numbers.



Sauf exception, les valeurs les plus basses correspondent aux comptages opérés sur la totalité de la cuve, le faible nombre compté étant alors directement lié à la pauvreté de la population (toutes les cellules présentes dans la cuve sont censées être détectées et comptées).

Il est possible de penser que certains laboratoires ont pu fournir un effort superflu en terme d'efficacité par des comptages poussés parfois largement au-delà de 1000 cellules pour une même espèce.

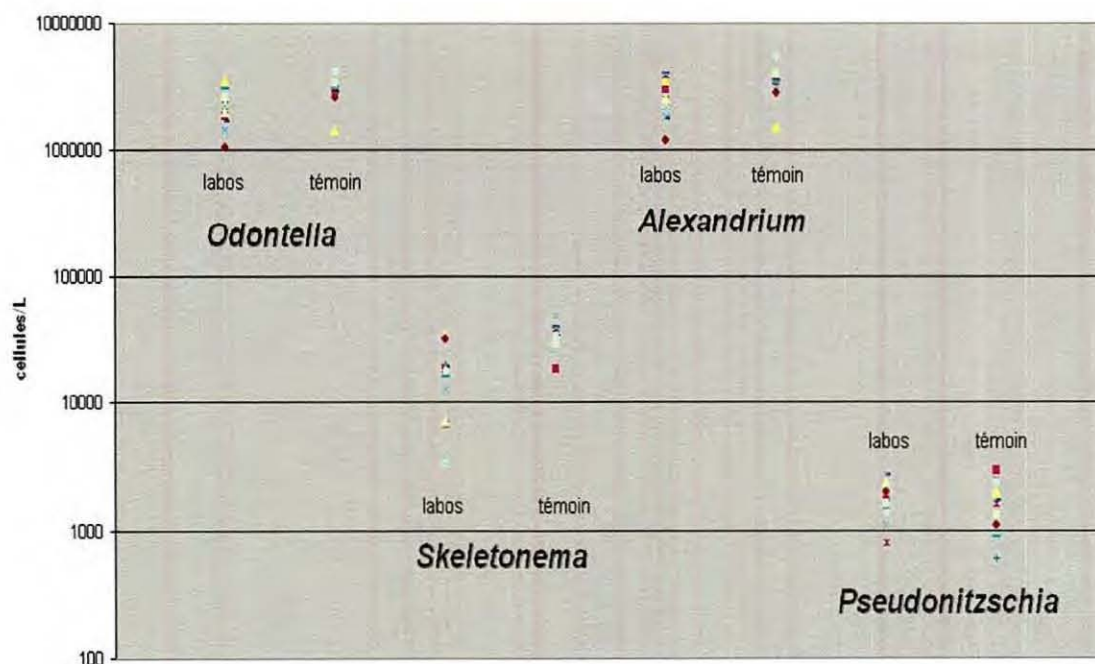
4. Résultats des comptages, choix de la méthode de détermination de la valeur assignée.

Le mode de préparation des mélanges A, B et C avant leur répartition dans les différents flacons envoyés pour analyse aux intervenants de l'EIL a été réalisé de manière à obtenir des échantillons le plus homogène possible. Néanmoins il convient d'évaluer cette homogénéité, qui est une des conditions limite à l'efficacité du test.

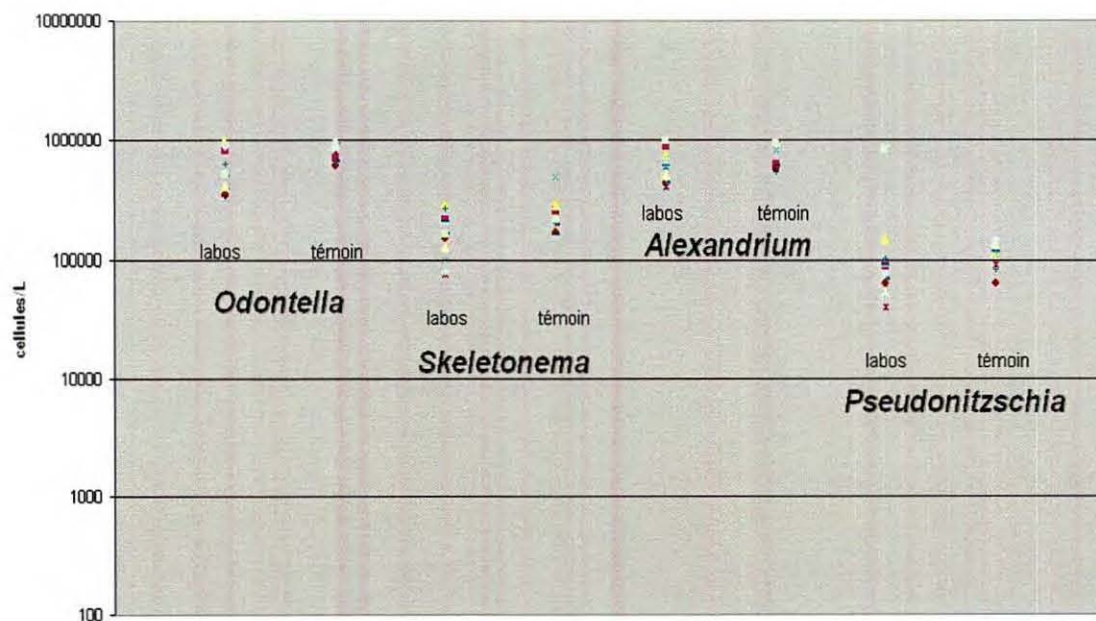
Les échantillons témoins ont été tirés au hasard parmi les lots des flacons issus des mélanges A, B et C, au même moment que ceux réservés à l'envoi aux laboratoires participants. Dix échantillons témoins par mélange ont été traités (30 flacons au total). L'analyste « témoin » a opéré avec un microscope ZEISS Axiovert 135 du laboratoire LER-MPL de Nantes, après étalonnage spécifique dans le cadre de cet EIL, indépendamment du laboratoire lui-même, et avec des chambres à sédimentation de 10 mL (même méthode que celle des laboratoires participants).

Les résultats de comptages sont présentés en annexe 7.2. Dans les analyses et graphiques suivants, ils font l'objet d'une transformation logarithmique, ce qui correspond à la bonne représentation pour ce type de mesure.

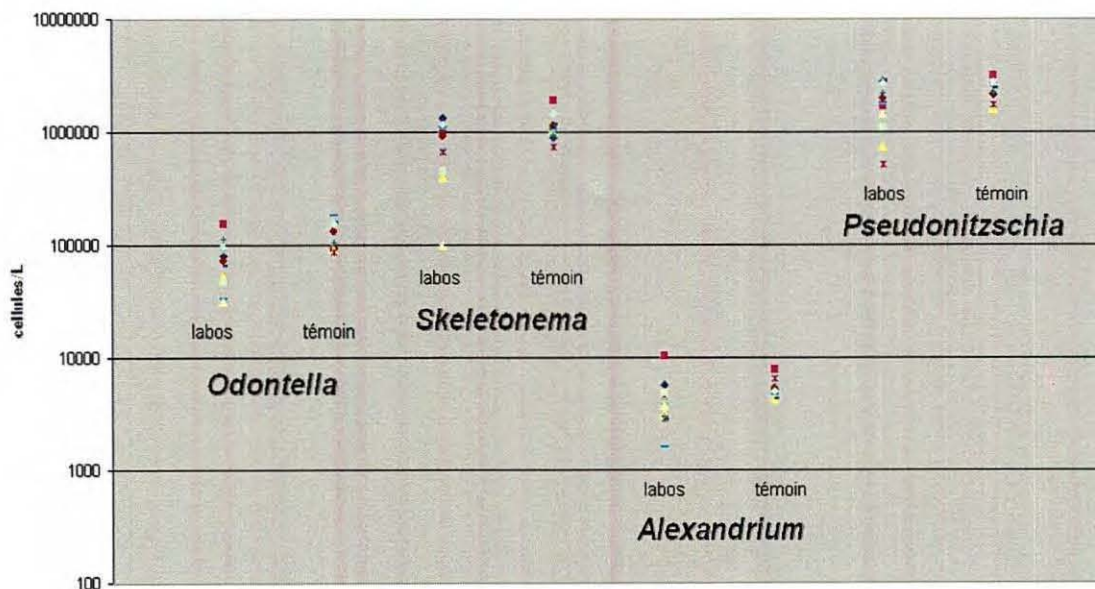
comparaison laboratoires / témoin mélange A



comparaison laboratoires / témoin mélange B



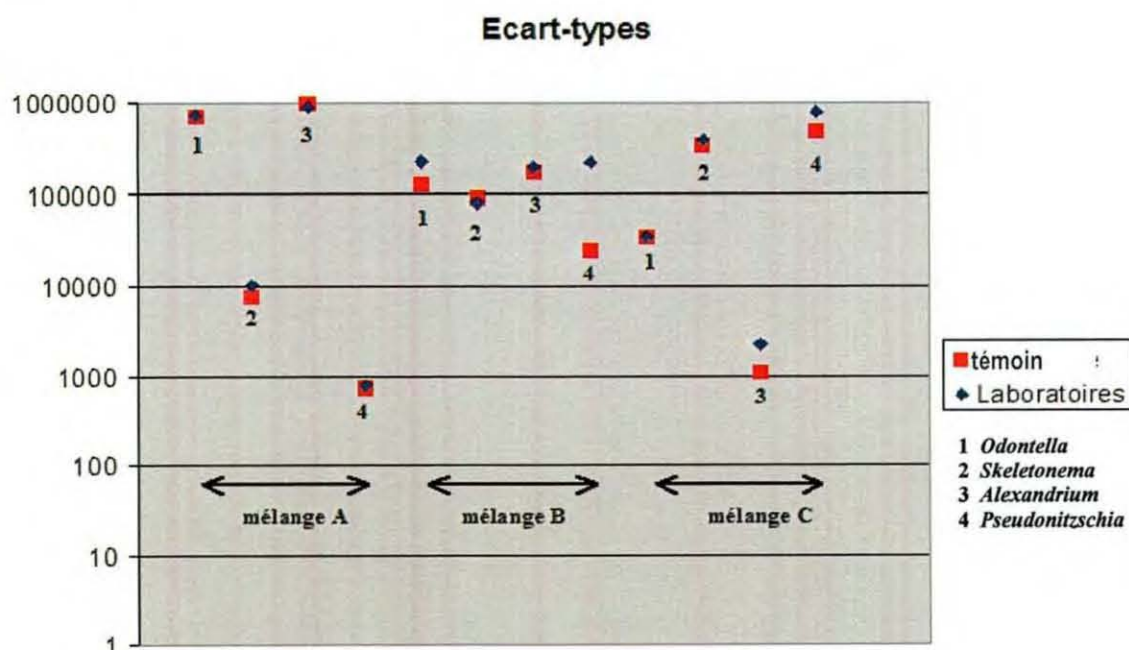
comparaison laboratoires / témoin mélange C



Ces résultats indiquent une cohérence des densités cellulaires à l'échelle logarithmique mais les résultats issus des échantillons témoins attestent aussi d'une hétérogénéité, malgré la suppression du biais inter-analyste.

Selon le mélange, et selon l'espèce, la comparaison « laboratoires participants/témoin » est très inégale, tant en fourchette d'estimation qu'en considérant la valeur moyenne du dénombrement, pour laquelle les données des témoins apparaissent parfois supérieures.

La comparaison des écart-types entre les résultats des laboratoires et du témoin est exprimée dans la figure suivante :



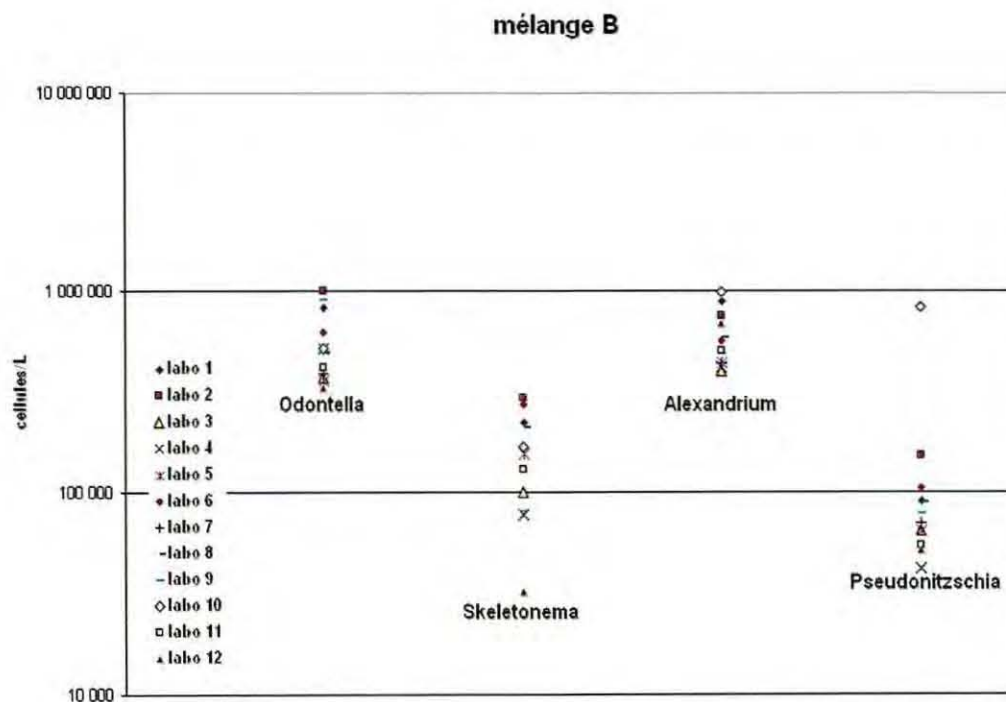
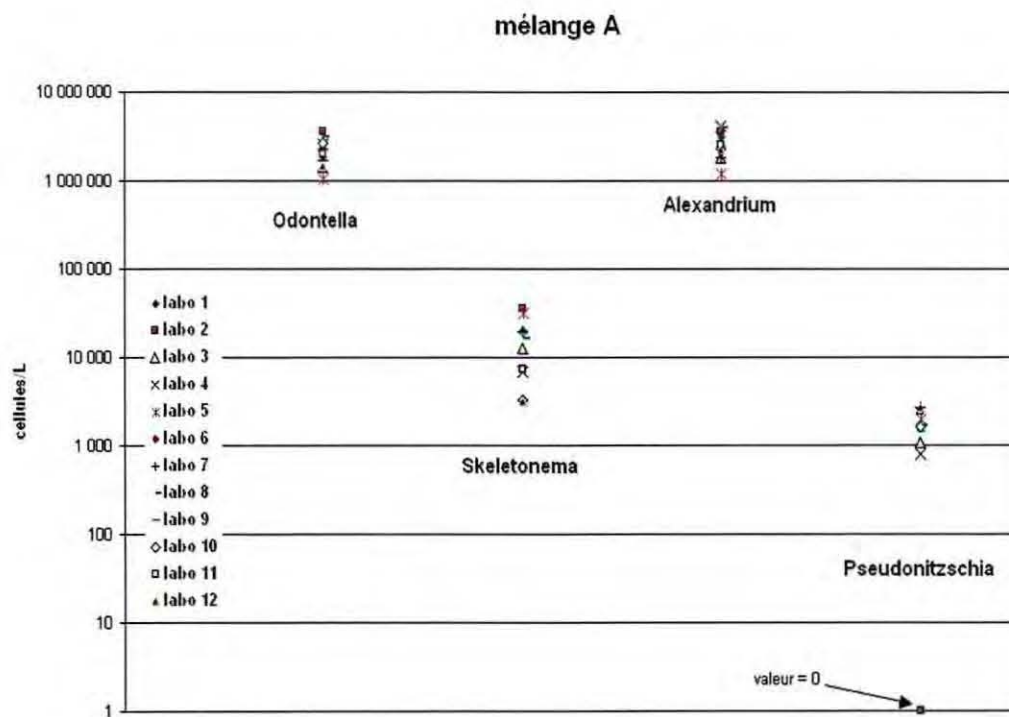
De tels résultats orientent le choix de la méthode de détermination de la valeur assignée en adoptant (cf. norme NF ISO 13528 : 2005) l'utilisation des valeurs consensuelles des laboratoires participants.

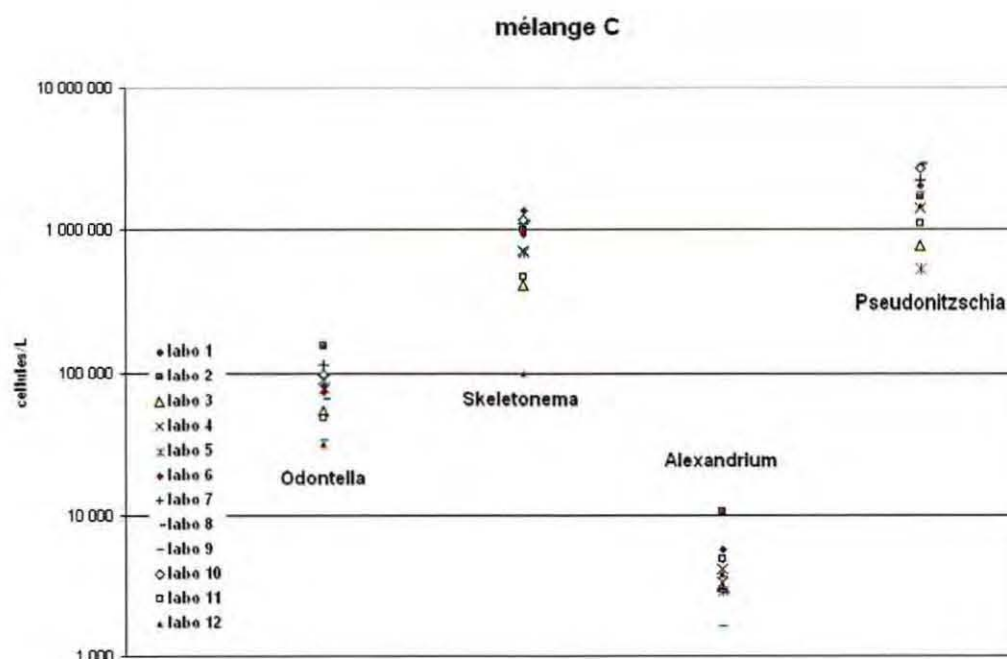
A ce niveau de l'analyse, les résultats issus des échantillons témoins ne seront plus utilisés.

5. Résultats des laboratoires participants

5.1. Résultats bruts

Afin de permettre globalement les comparaisons, les résultats des laboratoires participants sont représentés ci-dessous selon les trois mélanges :





5.2. Résultats traités

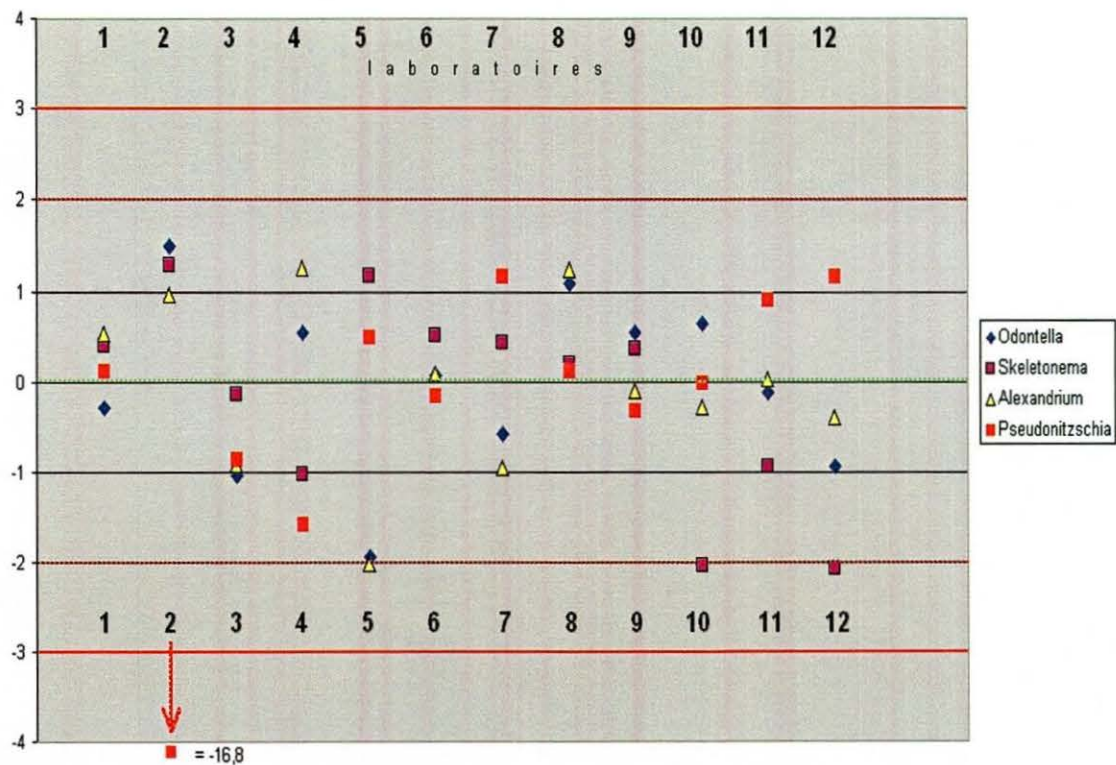
Le choix de l'utilisation des valeurs consensuelles des laboratoires participants pour la détermination de la valeur assignée amène à utiliser pour cette valeur la moyenne robuste des résultats fournis par l'ensemble des participants, calculée à l'aide d'un algorithme spécifié en annexe de la norme NF ISO 13528 : 2005, qui autorise la détermination d'un score Z .

Interprétation du score Z :

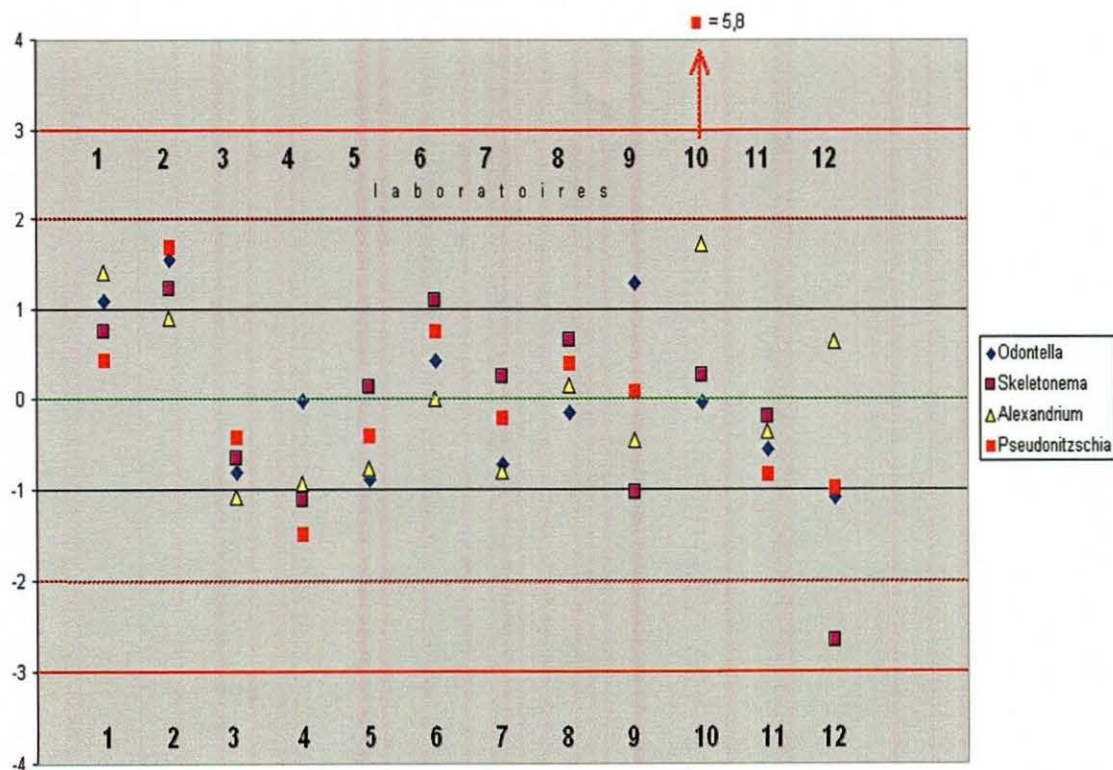
- le résultat doit être considéré comme donnant un « signal d'action » si le score Z est supérieur à 3 et inférieur à -3
- le résultat doit être considéré comme donnant un « signal d'avertissement » si le score Z est supérieur à 2 et inférieur à -2

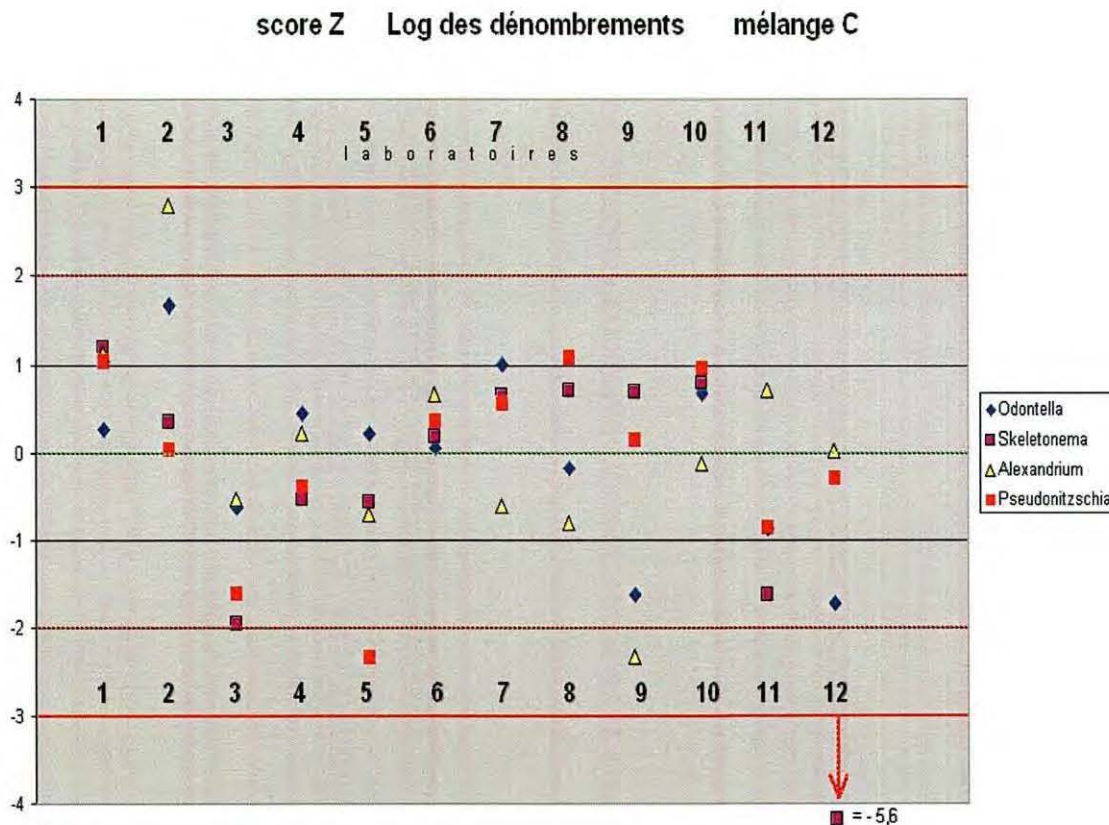
Les résultats du traitement sont rassemblés dans les trois graphes suivants, pour les mélanges A, B et C :

score Z Log des dénombrements mélange A



score Z Log des dénombrements mélange B





5.3. Signaux d'action et d'avertissement

En appliquant la grille de lecture du score Z, on discrimine les remarques suivantes :

mélange A	<p>Signal d'action : laboratoire 2 pour <i>Pseudonitzschia</i> (sous-évaluation : espèce non trouvée)</p> <p>Remarque : des laboratoires sont à la limite du signal d'avertissement</p> <ul style="list-style-type: none"> laboratoire 5 pour <i>Odontella</i> et <i>Alexandrium</i> (sous-évaluation) laboratoires 10 et 12 pour <i>Skeletonema</i> (sous-évaluation)
mélange B	<p>Signal d'action : laboratoire 10 pour <i>Pseudonitzschia</i> (sur-évaluation : suite à erreur de calcul de correspondance entre nombre de cellules lues et nombre de cellules/litre)</p> <p>Signal d'avertissement : laboratoire 12 pour <i>Skeletonema</i> (sous-évaluation)</p>
mélange C	<p>Signal d'action : laboratoire 12 pour <i>Skeletonema</i> (sous-évaluation)</p> <p>Signal d'avertissement : laboratoire 2 pour <i>Alexandrium</i> (sur-évaluation), laboratoire 5 pour <i>Pseudonitzschia</i> (sous-évaluation), laboratoire 9 pour <i>Alexandrium</i> (sous-évaluation)</p>

6. Discussion et conclusion

La variabilité des résultats enregistrés dans les échantillons témoins a amené à rejeter le choix d'une valeur de référence pour le traitement de cet EIL, aussi a-t-on utilisé la moyenne robuste comme outil de traitement des données des laboratoires participants, avec le score Z pour caractériser les déviations par rapport à l'ensemble du groupe.

Pour les comptages eux-mêmes, on pourrait pousser la réflexion au niveau des populations d'espèces proposées. Quelques remarques peuvent être formulées :

- *Odontella* : ces cellules se trouvaient souvent sous forme de colonies en chaîne, parfois en agglomérats plus ou moins compacts, et donc difficiles à dénombrer au niveau cellulaire. *Odontella* a pu être une source de biais pour son propre comptage, mais aussi pour celui d'autres petites espèces, particulièrement *Skeletonema* ou *Alexandrium*.
- *Skeletonema*, espèce la plus petite de toutes, était présent rarement en cellules isolées, mais surtout en petites colonies de 2, 3 à une vingtaine de cellules, avec une forte prépondérance des colonies comportant de 4 à 8 cellules. Comme indiqué ci-dessus, il a pu être parfois caché par les *Odontella*.
- *Alexandrium* était toujours en cellules isolées. Lorsqu'il s'est trouvé en faibles concentrations (cas du mélange C), *Odontella* n'a pas pu être pour lui une source importante de biais, en raison de sa faible abondance.
- *Pseudonitzschia* offrait la caractéristique d'une population en pleine croissance, comportant tous les stades de cellules en cours de division, ce qui a pu poser aux analystes le problème de la détermination de la situation où l'on passe d'un comptage de une cellule à deux cellules.

Les signaux d'actions visés ci-dessus sont seulement au nombre de trois, et les deux premiers trouvent une explication immédiate (et donc le choix de la mesure corrective adaptée): insuffisance de la surface de cuve lue et du nombre de cellules comptées pour la première, erreur de calcul dans le traitement du dénombrement pour le second. Le troisième semble indiquer pour le laboratoire concerné une difficulté systématique (cela porte sur les trois mélanges A, B et C) à l'identification et au dénombrement de *Skeletonema*. Cette espèce étant difficile à identifier et à dénombrer sous sa forme isolée, il conviendrait de revenir sur ce renseignement et, peut-être, de vérifier le bon état de conservation des colonies au moment des comptages.

A l'exception de ces points particuliers, les réponses des laboratoires semblent fournir un ensemble cohérent vis à vis du panel des partenaires impliqués dans cet EIL. Il peut sembler utile ici d'ajouter une information qui permet peut-être de relever un biais possible que les laboratoires concernés pourraient corriger : si l'on réalise un classement des laboratoires par données croissantes sur la totalité des dénombrements pris individuellement (3 dénombrements pour 4 espèces = 12), on peut ainsi arbitrairement discriminer ceux qui se trouvent, pour plus de la moitié de leurs résultats, parmi les trois laboratoires à présenter les plus faibles dénombrements, de ceux qui se trouvent dans les trois à présenter les plus forts dénombrements. Un tel classement donne les résultats suivants :



classement parmi les 12 laboratoires (ordre des résultats croissant)			
laboratoires	1 à 3 résultats les plus faibles	4 à 9	10 à 12 résultats les plus élevés
1	0	6	6
2	1	2	9
3	7	5	0
4	5	6	1
5	5	6	1
6	0	9	3
7	2	8	2
8	1	7	4
9	4	7	1
10	1	5	6
11	4	7	2
12	7	4	1

Classement dans la série supérieur à 6

Ainsi, il apparaît en particulier que le trop faible effort de comptage du laboratoire 2 l'a amené à une sur-évaluation des résultats. A l'inverse, le laboratoire 3 et le 12 présentent une tendance à la sous-estimation, qu'il serait peut-être possible de corriger par un ré-étalonnage du microscope et une vérification des tables de conversion des cellules comptées en cellules par litre.

Ces remarques sont à replacer dans le contexte de cet EIL qui a par ailleurs montré que les comptages moyens sur les échantillons témoins se sont révélés, pour une part non négligeable des espèces, supérieurs à la moyenne des résultats acquis par les laboratoires participants.

Cet essai d'intercalibration pour le dénombrement est le premier exercice du genre réalisé en France au niveau d'un réseau de surveillance phytoplanctonique marin. Il s'intègre dans la mise en œuvre de l'assurance qualité pour ce type de réseau, et devra attester, avec sa pérennisation, du maintien des bonnes pratiques et de leur optimisation.



7. Annexes

7.1. Lettre d'envoi de l'EIL aux laboratoires participants

Nantes, le 25 octobre 2006

Ifremer

ESSAI INTERLABORATOIRES POUR LE DENOMBREMENT PHYTOPLANCTONIQUE PAR LA METHODE D'UTERMHÖL

novembre – décembre 2006

organisateur : Hubert Grossel / REPHY

Description des échantillons envoyés

L'essai interlaboratoires porte sur l'analyse de 3 échantillons issus de mélanges A, B et C en part variable de 4 milieux de culture provenant du département EMP d'Ifremer/Nantes et de la station Ifremer de Bouin.

La préparation des échantillons a eu lieu vendredi 20 octobre 2006.

L'envoi des échantillons se fera semaine 43 par colissimo.

Les cultures concernent :

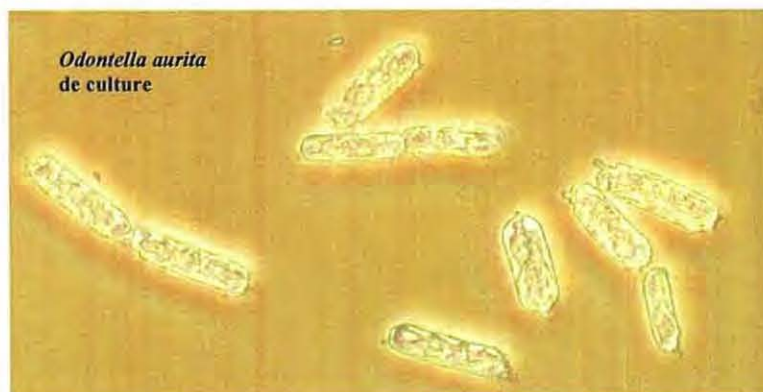
Odontella aurita : souche 122 entretenue à BM-PBA/Nantes

Skeletonema costatum : souche de Bouin

Alexandrium minutum : souche AM89BM (Bretagne nord) entretenue à EMP-PHYC / Nantes

Pseudonitzschia pungens : mélange de trois clones de baie de Seine, isolés en 2005 (U595-1, U595-2, U595-3) entretenue à EMP-PHYC / Nantes

Remarque : *Odontella aurita*, souche d'élevage, n'a pas forcément l'aspect observé habituellement à partir de prélèvements en milieu naturel



Les échantillons sont lugolés et placés (volume d'environ 100 mL) en flacon de 120 mL.

Il convient de les placer à l'obscurité et au frais, dans l'attente de l'analyse qui doit être réalisée au plus tôt.

Le délai pour rendu des résultats est de deux mois, soit pour la fin de l'année.

En cas d'analyse retardée, il convient de vérifier l'état de la conservation par le lugol, et si nécessaire en rajouter quelques gouttes.

Les résultats font l'objet d'un rendu présenté et renseigné selon le tableau ci-dessous :

Laboratoire de		Date du comptage :		
Echantillon A n _i	Nombre de cellules comptées	Volume lu (mL)	Stratégie d'observation : - Cuve ou fraction de cuve - transect (nombre de -) - champs oculaires ...	Cellules/L
<i>Odontella aurita</i>				
<i>Skeletonema costatum</i>				
<i>Alexandrium minutum</i>				
<i>Pseudonitzschia pungens</i>				

Laboratoire de		Date du comptage :		
Echantillon B n _p	Nombre de cellules comptées	Volume lu (mL)	Stratégie d'observation : - Cuve ou fraction de cuve - transect (nombre de -) - champs oculaires ...	Cellules/L
<i>Odontella aurita</i>				
<i>Skeletonema costatum</i>				
<i>Alexandrium minutum</i>				
<i>Pseudonitzschia pungens</i>				

Laboratoire de		Date du comptage :		
Echantillon C n _p '	Nombre de cellules comptées	Volume lu (mL)	Stratégie d'observation : - Cuve ou fraction de cuve - transect (nombre de -) - champs oculaires ...	Cellules/L
<i>Odontella aurita</i>				
<i>Skeletonema costatum</i>				
<i>Alexandrium minutum</i>				
<i>Pseudonitzschia pungens</i>				



Le rendu de l'intercalibration est prévu pour fin février. Le rapport présentera de manière anonyme les résultats, chacun des laboratoires recevant un numéro d'identification qu'il sera seul à connaître.

Je vous remercie de bien vouloir me retourner par courrier ce présent document dans les jours qui viennent, en indiquant votre accord ci-dessous pour votre implication dans cet essai.

Hubert Grossel

=====

=====

Je soussigné :

fonction :

Accepte les conditions du présent test

Date :

signature :



7.2. Résultats des comptages

Mélange A témoin

Dénombrements cellules/litre				
échantillons témoins	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
A22	2 983 680	18 800	3 486 720	2 900
A20	1 432 320	32 600	1 532 160	2 000
A2	2 588 160	48 256	2 952 960	2 500
A10	2 787 840	39 208	3 601 920	1 600
A25	2 649 600	31 000	2 799 360	1 100
A21	2 926 080	32 799	3 367 680	600
A23	2 906 880	33 930	3 502 080	1 700
A18	3 137 280	39 208	3 509 760	900
A6	4 227 840	33 553	5 583 360	2 400
A17	3 417 600	29 783	3 997 440	1 300

Mélange B témoin

Dénombrements cellules/litre				
échantillons témoins	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
B6	704 145	265 173	628 314	123 873
B15	922 180	295 474	934 413	115 743
B23	810 240	483 840	810 240	111 360
B5	807 378	244 660	918 416	94 100
B7	603 181	171 262	562 718	64 929
B19	662 942	208 902	534 488	84 690
B25	659 641	200 433	597 535	117 625
B10	914 652	162 793	920 298	117 625
B21	959 820	228 663	905 242	151 501
B18	872 592	225 792	909 048	132 888

Mélange C témoin

Dénombrements cellules/litre				
échantillons témoins	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
C20	91 100	1 954 560	7 800	3 164 160
C12	94 200	1 048 320	4 300	1 624 320
C2	131 196	974 545	5 800	2 630 400
C13	87 841	754 000	6 500	1 758 720
C21	135 343	1 148 160	5 300	2 135 040
C1	105 560	952 320	5 100	2 261 760
C3	162 487	1 171 200	4 300	2 442 240
C15	185 888	1 048 320	4 600	2 703 360
C9	156 382	1 493 760	5 000	2 803 200
C14	96 300	906 240	5 100	2 127 360

Mélange A laboratoires participants

Dénombrements cellules/litre				
code laboratoire	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
1	1 887 781	18 500	3 073 892	1 700
2	3 524 760	34 551	3 585 792	0
3	1 445 000	12 600	1 824 000	1 100
4	2 536 000	6 800	3 989 000	800
5	1 057 400	32 100	1 223 500	2 000
6	2 135 500	20 200	2 633 500	1 500
7	1 700 000	19 000	1 800 000	2 700
8	3 057 600	16 100	3 970 200	1 700
9	2 533 822	18 100	2 449 126	1 400
10	2 621 000	3 300	2 286 000	1 600
11	2 001 600	7 200	2 568 000	2 400
12	1 500 000	3 200	2 200 000	2 700

Mélange B laboratoires participants

Dénombrements cellules/litre				
code laboratoire	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
1	827 174	224 300	886 494	90 600
2	1 000 125	295 275	752 475	152 400
3	370 000	100 000	397 000	64 000
4	515 400	77 100	415 800	41 200
5	358 400	157 000	438 400	64 600
6	623 000	273 800	563 600	104 200
7	385 000	168 000	435 000	70 000
8	489 700	212 660	588 900	89 700
9	896 366	80 900	484 704	78 600
10	514 600	169 000	978 000	826 000
11	412 600	129 800	501 000	54 200
12	330 000	32 000	690 000	51 000

Mélange C laboratoires participants

Dénombrements cellules/litre				
code laboratoire	Odontella	Skeletonema	Alexandrium	Pseudonitzschia
1	81 600	1 346 218	5 700	2 779 767
2	156 500	981 800	10 470	1 707 000
3	53 800	403 000	3 100	754 000
4	88 800	699 200	4 100	1 384 000
5	80 200	688 000	2 900	527 200
6	74 200	920 100	4 800	2 000 800
7	115 000	1 100 000	3 000	2 200 000
8	66 300	1 127 100	2 800	2 865 100
9	33 700	1 115 164	1 600	1 799 790
10	98 700	1 164 000	3 600	2 690 000
11	48 000	458 400	4 900	1 089 600
12	32 000	100 000	3 800	1 450 000