

NORME INTERNATIONALE

ISO
6222

Première édition
1988-11-01



INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION
ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION
МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ

Qualité de l'eau — Dénombrement des micro-organismes revivifiants — Comptage des colonies par inoculation dans ou sur un milieu de culture nutritif gélosé

iTeh STANDARD PREVIEW

Water quality — Enumeration of viable micro-organisms — Colony count by inoculation in or on a nutrient agar culture medium

ISO 6222:1988

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/42179404-205a-4fb9-8699-d889f7f82d6e/iso-6222-1988>

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 projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 6222 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*.

ISO 6222:1988

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/42179404-205a-4fb9-8699-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/42179404-205a-4fb9-8699-4889f78216/iso-6222-1988)

[4889f78216/iso-6222-1988](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/42179404-205a-4fb9-8699-4889f78216/iso-6222-1988)

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

Qualité de l'eau — Dénombrement des micro-organismes revivifiants — Comptage des colonies par inoculation dans ou sur un milieu de culture nutritif gélosé

0 Introduction

Les eaux de toute sorte contiennent invariablement une variété de micro-organismes provenant de différentes origines et l'estimation de leurs nombres totaux peut fournir une information utile pour l'évaluation et la surveillance de la qualité de l'eau. Ces micro-organismes capables de survivre dans l'eau peuvent généralement mieux croître dans les milieux de culture de laboratoire à environ 22 °C qu'à des températures plus élevées, les résultats reflétant souvent les conditions d'environnement et saisonnières du moment. Au contraire, les micro-organismes qui croissent bien à 37 °C ne survivent généralement dans l'eau qu'avec difficulté et sont plus vraisemblablement issus d'autres origines et ont des implications hygiéniques.

Pour ces raisons, des comptages séparés des micro-organismes qui sont capables de croître et de former des colonies sur des milieux nutritifs dans des conditions de culture définies sont effectués à chacune de ces températures.

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour le dénombrement des micro-organismes revivifiants dans l'eau par comptage de colonies formées dans ou sur un milieu de culture solide gélosé après incubation en aérobiose à 37 °C et/ou à 22 °C.

La méthode s'applique à l'examen microbiologique de tous les types d'eaux.

2 Référence

ISO 8199, *Qualité de l'eau — Guide général pour l'analyse microbiologique — Dénombrement des micro-organismes sur milieux de culture.*

3 Définition

Dans le cadre de la présente Norme internationale, la définition suivante est applicable.

micro-organismes revivifiants : Totalité des bactéries, levures et moisissures aérobies capables de former des colonies dans ou sur le milieu de culture spécifié dans les conditions d'essai décrites.

4 Principe

Ensemencement en profondeur ou par étalement en surface d'un milieu de culture nutritif gélosé spécifié dans des boîtes de Petri, de volumes déterminés de l'échantillon ou de dilutions de l'échantillon. Incubation d'un jeu de boîtes à 37 °C pendant 24 h (ou 48 h) et d'un autre jeu à 22 °C pendant 72 h.

Calcul du nombre d'unités de colonies formées (u-c-f) par millilitre d'échantillon à partir du nombre de colonies formées dans ou sur le milieu.

5 Milieu de culture et diluants

5.1 Composants de base

Utiliser, pour la préparation du milieu, des récipients de qualité uniforme et des produits chimiques de qualité analytique; alternativement, utiliser un milieu complet déshydraté et suivre les instructions du fabricant.

Pour la préparation des milieux, utiliser l'eau distillée dans un appareil en verre ou déionisée exempte de substances qui pourraient inhiber la croissance dans les conditions de l'essai.

5.2 Diluant

Pour faire les dilutions, utiliser l'un des diluants recommandés dans l'ISO 8199.

5.3 Gélose à l'extrait de levure

Tryptone	6 g
Extrait de levure déshydraté	3 g
Gélose en poudre ou en paillettes	12 g
	(selon le pouvoir gélifiant)
Eau	1 000 ml

Ajouter les composants, ou le milieu complet déshydraté, à l'eau et dissoudre par chauffage. Ajuster si nécessaire le pH de façon qu'il soit de $7,2 \pm 0,2$ à 25 °C après stérilisation.

Répartir en volumes de 15 ml dans des tubes, des flacons ou autres récipients. Pour la conservation en plus grands volumes, utiliser des récipients ayant jusqu'à 500 ml de capacité. Stériliser à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

Pour l'emploi, faire fondre le milieu, laisser refroidir et le maintenir à 45 ± 1 °C au moyen du bain d'eau (6.5).

6 Appareillage et verrerie

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, et

6.1 Appareils pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).

6.2 Étuves, capables de maintenir une température de 37 ± 1 °C.

6.3 Étuves, capables de maintenir une température de 22 ± 1 °C.

6.4 Boîtes de Petri en verre ou en matière plastique, de diamètre 90 mm ou 100 mm.

6.5 Bain d'eau, ou équipement similaire, capable de maintenir une température de 45 ± 1 °C.

6.6 Appareils pour le comptage des colonies, muni d'un système d'éclairage sur un fond noir, d'une loupe de grossissement (facultative) et, de préférence, d'un compteur mécanique ou électronique.

7 Échantillonnage

Prélever les échantillons d'eau selon les instructions de l'ISO 8199.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation et ensemencement

Préparer l'échantillon, les dilutions et les ensemencements du milieu de culture, selon l'ISO 8199.

Pour l'incorporation en gélose, placer le volume d'essai dans la boîte de Petri, ajouter le milieu fondu (5.3) et mélanger avec précaution par rotation lente; laisser reposer le milieu. Pour l'étalement en surface, placer le volume d'essai sur la surface sèche du milieu gélosé (5.3) et le répartir sur la surface avec une tige en verre stérile; laisser l'inoculum s'absorber.

Inoculer au moins deux boîtes pour chaque volume d'essai à chacune des températures.

8.2 Incubation et examen

Retourner les boîtes et incuber un jeu à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 1 h ou 48 ± 4 h; incuber l'autre jeu de boîtes à 22 ± 1 °C pendant 72 ± 4 h. Examiner les boîtes aussitôt qu'elles sont retirées des étuves; si cela n'est pas possible, les

conserver à 4 °C et les examiner dans les 24 h. Rejeter toute boîte présentant une croissance non séparée.

8.3 Comptage des colonies

Compter les colonies présentes dans ou sur chaque boîte, si nécessaire avec grossissement et à l'aide du dispositif de comptage (6.6).

Déterminer le nombre moyen de colonies à partir des paires de boîtes de chaque dilution, chaque boîte contenant de préférence entre 25 et 300 colonies. Pour chaque température d'incubation, calculer le nombre estimé d'unité de colonies formées présentes dans 1 ml d'échantillon.

Alternativement, si plus d'une paire de dilutions donnent des comptages entre 25 et 300 colonies, déterminer alors la moyenne selon la formule donnée en 8.4 de l'ISO 8199. À partir de ces valeurs, estimer pour chaque température d'incubation le nombre d'unités de colonies formées présentes dans 1 ml d'échantillon.

9 Expression des résultats

Exprimer les résultats en nombre d'unités de colonies formées par millilitre d'échantillon pour chaque température d'incubation.

En l'absence de résultat de l'échantillon non dilué, exprimer les résultats sous la forme moins de 1 unité de colonie formée par millilitre. En présence de plus d'environ 300 colonies sur les boîtes inoculées avec les plus fortes dilutions utilisées, n'exprimer les résultats qu'approximativement.

10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit faire référence à la présente Norme internationale et donner toutes les informations nécessaires, à savoir :

- toutes les informations pour une identification complète de l'échantillon;
- la technique (incorporation en gélose ou étalement en surface) et le milieu utilisé;
- le temps et la température d'incubation;
- les résultats du comptage exprimés en accord avec le chapitre 9;
- tout incident particulier observé au cours de l'analyse et tout autre fait pertinent ayant trait au mode opératoire suivi.

CDU [543.39 + 556.115] : 57.083.18

Descripteurs : eau, qualité, essai, analyse microbiologique, détermination, microorganisme.

Prix basé sur 2 pages