
Norme internationale



7899/1

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

● **Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux —
Partie 1: Méthode par enrichissement en milieu liquide**

Water quality — Detection and enumeration of faecal streptococci — Part 1: Method by enrichment in a liquid medium

Première édition — 1984-12-15

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 7899-1:1984](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b6fb8ce-0d1f-4ab1-8d16-ba0e065016e2/iso-7899-1-1984>

CDU 579.68 : 579.862.1

Réf. n° : ISO 7899/1-1984 (F)

Descripteurs : eau, qualité, essai, détection, bactérie, pollution de l'eau.

Prix basé sur 3 pages

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 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.

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 7899/1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*.

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.itih.ai)

[ISO 7899-1:1984](#)

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/sist/3b6fb8ce-0d1f-4ab1-8d16-ba0e065016e2/iso-7899-1-1984>

Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux —

Partie 1: Méthode par enrichissement en milieu liquide

0 Introduction

À travers le monde, les opinions divergent sur le fait de considérer les streptocoques comme indicateurs de pollution fécale. Dans la présente partie de l'ISO 7899, une méthode est décrite pour isoler les streptocoques possédant le groupe antigène D. Dans le cadre de l'examen de l'eau, ces organismes peuvent être considérés comme indicateurs de pollution fécale. Il se peut cependant qu'un petit nombre de streptocoques du groupe D trouvés dans l'eau proviennent également d'autres habitats. La sélectivité des milieux utilisés permet d'obtenir en pratique un comptage des streptocoques du groupe D, valable pour la plupart des cas. Dans cette méthode, à défaut d'une confirmation sérologique, on utilisera le terme « streptocoques fécaux ».

Dans certaines circonstances cependant, une identification plus poussée et un groupement sérologique des streptocoques isolés peuvent être nécessaires.

L'ISO 7899 comprend les parties suivantes:

Partie 1: Méthode par enrichissement en milieu liquide.

Partie 2: Méthode par filtration sur membrane.

1 Objet

La présente partie de l'ISO 7899 spécifie une méthode de référence pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux, par enrichissement en milieu liquide.

2 Domaine d'application

La méthode peut être appliquée à tous les types d'eaux, y compris les eaux turbides.

3 Références

ISO 5667, *Qualité de l'eau — Échantillonnage —*

Partie 1: Guide général pour l'établissement des programmes d'échantillonnage.

Partie 2: Guide général sur les techniques d'échantillonnage.

Partie 3: Guide général pour la conservation et la manipulation des échantillons.

4 Définition

streptocoques fécaux: Bactéries donnant une réaction positive avec les milieux d'enrichissement (voir 6.2.1 et 6.2.2) et de confirmation spécifiés dans la présente partie de l'ISO 7899, et donnant une réaction négative dans l'essai à la catalase.

5 Principe et réactions

La recherche des streptocoques fécaux dans un volume donné d'échantillon nécessite les deux étapes suivantes.

5.1 Culture d'enrichissement

Incubation de l'échantillon dans le milieu sélectif liquide à l'azote et au glucose à 35 ou 37 °C pendant 44 ± 4 h. Les streptocoques fécaux croissent dans ce milieu et fermentent le glucose avec formation d'acide, ce qui provoque le virage de la coloration de l'indicateur de pH du pourpre au jaune.

5.2 Confirmation

Tous les tubes d'enrichissement présentant une réaction positive après 24 ou 48 h sont repiqués sur un milieu de confirmation afin d'éliminer les réactions faussement positives produites par d'autres cocci ou batonnets gram-positifs. Le milieu de confirmation, gélose bilée à l'esculine et à l'azote, est alors incubé à 44 °C pendant 48 h. Les streptocoques fécaux se développent sur ce milieu et hydrolysent l'esculine; le produit final, la dihydroxy-6,7 coumarine, se combine avec les ions fer(III) pour donner un composé de coloration foncée à noire qui diffuse dans le milieu. En outre, un essai à la catalase est effectué sur des colonies suspectes sur le milieu de confirmation.

Les colonies donnant une réaction positive à l'esculine et qui sont négatives à la catalase, peuvent être considérées comme des streptocoques fécaux.

6 Milieux de culture et réactif

AVERTISSEMENT — Tous les milieux sélectifs décrits dans la présente partie de l'ISO 7899 contiennent de l'azoture de sodium. Cette substance étant très toxique et mutagène, des précautions doivent être prises pour éviter tout contact avec elle, en particulier par inhalation de fines poussières lors de la préparation des milieux complets déshydratés disponibles dans le commerce. Les milieux contenant de l'azoture ne doivent pas être mélangés avec des acides minéraux forts, car de l'acide azothydrique (HN_3) toxique peut être produit. Les solutions contenant de l'azoture sont également susceptibles de former des composés explosifs au contact de canalisations métalliques, par exemple celles des éviers.

6.1 Composants de base

Pour l'uniformité des résultats, utiliser, pour la préparation des milieux, soit des composants de qualité homogène et des produits chimiques de qualité analytique reconnue, soit un milieu complet déshydraté.

L'azoture de sodium se dégrade au cours du temps, aussi les milieux complets déshydratés ont une durée de stockage limitée.

Utiliser uniquement de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

6.2 Milieux de culture.

6.2.1 Bouillon glucosé à l'azoture (simple concentration)

extrait de viande de bœuf	4,5 g
tryptone	15,0 g
glucose	7,5 g
chlorure de sodium (NaCl)	7,5 g
azoture de sodium (NaN_3)	0,2 g
pourpre de bromocrésol (solution à 1,5 g/l dans l'éthanol)	1 ml
eau	1 000 ml

Dissoudre les composants dans l'eau à ébullition.

Ajuster le pH de façon qu'après stérilisation, il soit de $7,2 \pm 0,1$ à 25°C .

Répartir en tubes par volumes de 10 ml.

Stériliser le milieu pendant 15 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

NOTE — Pour l'examen d'échantillons d'eau de plus de 1 ml, un bouillon « double concentration » doit être préparé par volumes égaux à ceux de l'échantillon à analyser.

1) Selon les instructions du fabricant.

6.2.2 Gélose biliée à l'esculine et à l'azoture

tryptone	17,0 g
peptone	3,0 g
extrait de levure	5,0 g
bile de bœuf, déshydratée	10,0 g
chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
esculine	1,0 g
citrate double de fer(III) et d'ammonium	0,5 g
azoture de sodium (NaN_3)	0,15 g
agar-agar	12 à 20 g ¹⁾
eau	1 000 ml

Dissoudre les composants dans l'eau à ébullition.

Ajuster le pH de façon qu'après stérilisation, il soit de $7,2 \pm 0,1$ à 25°C .

Répartir en récipients adéquats.

Stériliser pendant 15 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

Refroidir entre 50 et 60°C , verser dans des boîtes de Petri sur une épaisseur d'au moins 3 mm et laisser refroidir sur une surface horizontale.

6.3 Peroxyde d'hydrogène, solution à 30 g/l.

7 Appareillage

Matériel courant pour laboratoire de microbiologie, et

7.1 Incubateur, pouvant être réglé à $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ou à $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.2 Incubateur, pouvant être réglé à $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

7.3 Autoclave, pouvant être réglé à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

8 Échantillonnage

Voir ISO 5667/1, ISO 5667/2 et ISO 5667/3.

9 Mode opératoire

9.1 Traitement des échantillons

Les généralités, telles que le traitement des échantillons, la préparation des dilutions, feront l'objet d'une future Norme internationale.

9.2 Enrichissement

Ajouter 1 ml de l'échantillon (ou de l'échantillon dilué) dans 10 ml du bouillon de l'azoture et au glucose (6.2.1) et mélanger vigoureusement.

Des volumes supérieurs à 1 ml doivent être ajoutés à un volume égal en milieu double concentration.

Incuber à 35 ± 1 °C ou à 37 ± 1 °C pendant 22 ± 2 h.

Considérer comme positifs tous les tubes montrant une coloration jaune (dans l'ensemble du tube ou seulement dans sa partie inférieure). Réincuber les tubes négatifs pendant 22 ± 2 h.

Après cette incubation, même un léger virage au rouge pourpre doit être considéré comme indiquant une production d'acide. En vue d'améliorer l'interprétation, la couleur d'un tube inoculé doit être comparée à la couleur d'un tube non inoculé.

Pour la quantification, utiliser la méthode du nombre le plus probable.

9.3 Confirmation

Procéder à la confirmation de chaque culture d'enrichissement ayant montré une formation d'acide comme suit:

Ensemencer à l'aide d'une anse bouclée le bouillon d'enrichissement sur une boîte de gélose biliée à l'esculine et à l'azoture (6.2.2).

Incuber à $44 \pm 0,5$ °C pendant 44 ± 4 h.

Considérer comme positives les boîtes présentant une coloration foncée à noire des colonies et/ou du milieu environnant.

9.4 Essai à la catalase

Déposer 1 goutte de la solution de peroxyde d'hydrogène (5.3) sur les colonies situées sur la gélose biliée à l'esculine et à l'azoture (5.2.2). Le développement de bulles d'oxygène révèle des organismes catalase-positifs. Seules les colonies catalase-négatives doivent être dénombrées comme streptocoques fécaux.

NOTE — Afin d'éliminer les erreurs dues à des réactions faussement négatives à la catalase, pouvant se produire sur la gélose biliée à l'esculine et à l'azoture, l'essai peut être répété sur un repiquage sur un milieu non sélectif.

10 Expression des résultats

Une description générale de l'expression des résultats et le calcul du nombre le plus probable (NPP) feront l'objet d'une future Norme internationale.

11 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit contenir les indications suivantes:

- la référence à la présente partie de l'ISO 7899;
- tout détail nécessaire à l'identification complète de l'échantillon;
- la méthode de confirmation utilisée;
- les résultats exprimés en nombre le plus probable de streptocoques fécaux par volume d'échantillon, comme indiqué dans le chapitre 10.