
**Qualité de l'eau — Recherche et
dénombrement des entérocoques
intestinaux —**

**Partie 2:
Méthode par filtration sur membrane**

*Water quality — Detection and enumeration of intestinal enterococci —
Part 2: Membrane filtration method*

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard available on standards.iteh.ai/catalog/standards/sic/4191230e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sic/4191230e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000>



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)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/499230e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000>

© 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
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
5 Appareillage	2
6 Milieux de culture et réactifs	3
7 Échantillonnage	4
8 Mode opératoire	5
9 Assurance de qualité	5
10 Expression des résultats	5
11 Rapport d'essai	5
Annexe A (informative) Information complémentaire sur les entérocoques intestinaux	7
Bibliographie	8

iTeh STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)
 Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/499250e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000>

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 partie de l'ISO 7899 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 7899-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 4, *Méthodes microbiologiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 7899-2:1984), dont elle constitue une révision technique.

L'ISO 7899 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux*:

- *Partie 1: Méthode miniaturisée (nombre le plus probable) dans les eaux de surface et résiduaires*
- *Partie 2: Méthode par filtration sur membrane*

L'annexe A de la présente partie de l'ISO 7899 est donnée uniquement à titre d'information.

Introduction

Dans la présente partie de l'ISO 7899 est décrite une méthode pour la recherche d'entérocoques intestinaux. *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* et *E. hirae* peuvent être détectés et dénombrés avec la méthode décrite dans la présente partie de l'ISO 7899. Par ailleurs, d'autres espèces d'*Enterococcus* et certaines espèces du genre *Streptococcus* (notamment *S. bovis* et *S. equinus*) peuvent occasionnellement être détectées. Ces espèces de *Streptococcus* ne survivent pas longtemps dans l'eau et ne sont probablement pas dénombrées quantitativement. Pour les besoins de l'analyse de l'eau, les entérocoques peuvent être considérés comme des indicateurs de pollution fécale. Il convient néanmoins de noter que certains entérocoques trouvés dans l'eau peuvent, à l'occasion, provenir d'autres habitats.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/499230e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/499230e-7c64-4cc2-80dc-19e77bec4fb2/iso-7899-2-2000>

Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux —

Partie 2: Méthode par filtration sur membrane

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 7899 spécifie une méthode pour la recherche et le dénombrement des entérocoques intestinaux dans l'eau par filtration sur membrane. La présente partie de l'ISO 7899 est spécialement adaptée à l'examen des eaux de boisson, des eaux de piscines, et d'autres eaux désinfectées ou propres. Néanmoins, la méthode peut être appliquée à tous types d'eaux, excepté en présence d'une abondance de matières en suspension ou de germes interférents. Elle est particulièrement adaptée à l'examen de grands volumes d'eau contenant peu d'entérocoques intestinaux.

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 partie de l'ISO 7899. 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 partie de l'ISO 7899 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 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*.

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 6887-1:1999, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*.

ISO 8199:1988, *Qualité de l'eau — Guide général pour le dénombrement des microorganismes sur milieu de culture*.

ISO/CEI Guide 2:1996, *Normalisation et activités connexes — Vocabulaire général*.

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 7899, les termes et définitions donnés dans l'ISO/CEI Guide 2 ainsi que le terme et la définition suivants s'appliquent.

3.1

entérocoques intestinaux

bactéries capables de réduire le chlorure de 2,3,5-triphényl-tétrazolium en formazan et d'hydrolyser l'esculine à 44 °C sur les milieux (6.3.1 et 6.3.2) spécifiés dans la présente partie de l'ISO 7899

NOTE Voir aussi l'annexe A.

4 Principe

4.1 Filtration, incubation et dénombrement

Le dénombrement des entérocoques intestinaux est fondé sur la filtration d'un volume spécifié d'un échantillon d'eau à travers une membrane filtrante ayant une grandeur de pore (0,45 µm) suffisante pour retenir les bactéries. Le filtre est placé sur un milieu sélectif solide contenant de l'azoture de sodium (pour supprimer la croissance des bactéries Gram-négatives) et du chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium, un colorant incolore qui est réduit en formazan rouge par les entérocoques intestinaux.

Les colonies typiques sont bombées, avec une couleur rouge, marron ou rose, soit au centre soit sur l'ensemble de la colonie.

4.2 Confirmation

Dans le cas où des colonies typiques sont observées, une étape de confirmation est nécessaire, par transfert de la membrane, avec toutes les colonies, sur une gélose à la bile, à l'esculine et à l'azoture, préchauffée à 44 °C. Les entérocoques intestinaux hydrolysent l'esculine sur ce milieu en 2 h. Le produit de la réaction, la 6,7-dihydroxycoumarine, se combine aux ions ferriques pour donner un composé brun à noir qui diffuse dans le milieu.

5 Appareillage

À l'exclusion de la verrerie à usage unique livrée stérile, la verrerie doit être stérilisée conformément à l'ISO 8199.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et, en particulier, ce qui suit.

5.1 Appareillage pour filtration sur membrane, conformément à l'ISO 8199.

5.2 Membranes filtrantes stériles, de porosité nominale 0,45 µm.

La qualité des membranes filtrantes peut varier d'une marque à l'autre et même d'un lot à l'autre. Il est donc judicieux d'en vérifier régulièrement la qualité conformément à l'ISO 7704.

5.3 Incubateur, capable de maintenir une température de 36 °C ± 2 °C.

5.4 Incubateur, capable de maintenir une température de 44 °C ± 0,5 °C.

5.6 Autoclave, capable de maintenir une température de 121 °C ± 3 °C.

5.7 Pinces stériles.

5.8 Plaque chauffante ou bain d'eau, maintenu(e) à 100 °C.

6 Milieux de culture et réactifs

6.1 Composants de base

AVERTISSEMENT — Les milieux sélectifs décrits dans la présente partie de l'ISO 7899 contiennent de l'azoture de sodium. Étant donné que cette substance est très toxique et mutagène, des précautions doivent être prises pour en éviter le contact, spécialement par inhalation de fine poussière pendant la préparation de milieux complets disponibles dans le commerce sous forme déshydratée. Les milieux contenant de l'azoture ne doivent pas être mis au contact d'acides minéraux forts, parce que de l'acide azothydrique (HN_3) peut être produit. Les solutions contenant de l'azoture sont également susceptibles de former des composés explosifs au contact de tuyauteries métalliques, par exemple celles des éviers.

Les azotures peuvent être décomposés en sécurité par addition en excès d'une solution saturée de nitrites.

Pour l'uniformité des résultats, utiliser pour la préparation des milieux soit un milieu complet déshydraté, soit des composants de qualité homogène et des produits chimiques de qualité analytique reconnue. L'azoture de sodium se détériore avec le temps, aussi les milieux de culture ont-ils une durée de vie limitée.

NOTE Il est également possible d'utiliser des produits chimiques d'une qualité autre, à condition de démontrer qu'ils permettent d'obtenir des performances équivalentes dans le cadre du présent test.

6.2 Eau distillée, ou eau de pureté équivalente conformément à l'ISO 3696.

6.3 Milieux de culture

6.3.1 Milieu de Slanetz et Bartley

6.3.1.1 Milieu de base

Tryptose	20,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	2,0 g
Hydrogénophosphate dipotassique (K_2HPO_4)	4,0 g
Azoture de sodium (NaN_3)	0,4 g
Agar-agar	8 g à 18 g ¹⁾
Eau	1 000 ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau bouillante.

Quand la dissolution est achevée, chauffer encore 5 min.

Laisser refroidir jusqu'à une température de 50 °C à 60 °C.

6.3.1.2 Solution de TTC

Chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium	1 g
Eau	100 ml

1) Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar.