
**Qualité de l'eau — Recherche et
dénombrement des *Legionella***

Water quality — Detection and enumeration of Legionella

**iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)**

[ISO 11731:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d0499f696f/iso-11731-1998)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d0499f696f/iso-11731-1998>



Sommaire

Page

1	Domaine d'application	1
2	Référence normative	1
3	Définition	1
4	Sécurité.....	1
5	Principe.....	2
6	Milieux de culture et réactifs	2
7	Appareillage	6
8	Échantillonnage.....	7
9	Mode opératoire.....	8
10	Expression des résultats.....	11
11	Rapport d'essai.....	12
	Annexe A: Grattage des bactéries à partir des membranes filtrantes	13
	Annexe B: Identification des colonies sur le milieu BCYE – Cys	14
	Annexe C: Essai d'immunofluorescence indirecte pour l'identification de <i>L. pneumophila</i>	15
	Annexe D: Bibliographie.....	17

© ISO 1998

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'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

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 vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 11731 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 4, *Méthodes microbiologiques*.

ISO 11731:1998

<https://standards.iso.org/standard/51300/iso-11731-1998.html> Les annexes A, B, C et D de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11731:1998

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d0499f696f/iso-11731-1998>

Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des *Legionella*

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode de culture pour l'isolement des *Legionella* et leur dénombrement dans des échantillons de l'environnement.

Cette méthode est applicable à tous les types d'échantillon de l'environnement, y compris les eaux potables, les eaux industrielles, les eaux naturelles et les matériaux associés tels que les sédiments, les dépôts et le biofilm.

2 Référence normative

La norme suivante contient des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, l'édition indiquée était en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente de la norme indiquée ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 3696:1986, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*.

3 Définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, la définition suivante s'applique.

3.1

Legionella

genre de bactéries à Gram négatif normalement capables de croître en deux jours au moins avec de la *L*-cystéine et du fer(II), sur gélose tamponnée au charbon actif et à l'extrait de levure et formant des colonies, d'une couleur souvent blanche, pourpre-bleu, ou vert-jaune

NOTE — Certaines espèces sont fluorescentes sous une lumière ultraviolette de grande longueur d'onde. Les colonies ont une apparence de verre fritté lorsqu'elles sont observées avec un microscope stéréoscopique de faible puissance. À de rares exceptions près, la croissance n'a pas lieu en l'absence de *L*-cystéine.

4 Sécurité

Il convient que les réactifs employés dans la présente Norme internationale soient soumis au contrôle des substances dangereuses au titre des risques sanitaires.

Les espèces de *Legionella* peuvent être manipulées en toute sécurité par des microbiologistes avertis, sur une paillasse découverte dans un laboratoire de microbiologie traditionnel conforme à un confinement de niveau 2. Des infections pouvant être causées par inhalation de ces bactéries, il est recommandé d'évaluer toutes les méthodes du point de vue de leur aptitude à former des aérosols. En cas de doute, les travaux doivent être effectués dans une hotte de sécurité.

5 Principe

5.1 Généralités

Les bactéries, y compris les *Legionella*, contenues dans un échantillon d'eau sont concentrées par filtration sur membrane ou par centrifugation. Les échantillons turbides peuvent être centrifugés. Afin de réduire le développement de bactéries interférentes, une partie de l'échantillon concentré est soumise à un traitement acide, une autre partie subissant un traitement thermique. Les fractions traitées et non traitées sont ensuiteensemencées sur des boîtes de milieu gélosé sélectif pour les *Legionella*, et incubées. Il n'est pas nécessaire de concentrer les échantillons contenant un nombre suffisant de *Legionella*, avant d'être mis en culture.

5.2 Dénombrement

Après incubation, les colonies de morphologie caractéristique qui se forment sur le milieu sélectif sont considérées comme des *Legionella* présumées.

5.3 Confirmation

Les colonies présumées sont confirmées comme étant des *Legionella* par repiquage pour mettre en évidence leur besoin en L-cystéine et en fer pour se développer. Pour l'identification des espèces, il est nécessaire d'effectuer des essais biochimiques et sérologiques supplémentaires.

6 Milieux de culture et réactifs

ISO 11731:1998
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d0499f696f/iso-11731-1998>

6.1 Généralités

Sauf spécification contraire, utiliser des produits chimiques de qualité analytique pour la préparation des milieux et des réactifs (voir note 1). Il est également possible d'utiliser des milieux et réactifs déshydratés disponibles dans le commerce. Préparer les milieux conformément aux instructions du fabricant et ajouter les agents sélectifs ou adjuvants de croissance de préparation récente (ou décongeler, avant utilisation et à température ambiante, les ingrédients conservés) aux concentrations recommandées. Préparer les milieux au moyen d'eau distillée dans un appareillage en verre ou d'une eau de qualité équivalente conforme à l'ISO 3696, Qualité 3.

NOTE 1 L'utilisation de produits chimiques d'autres qualités est permise, sous réserve de démontrer qu'ils ont une performance égale pour l'essai.

Utiliser des réactifs sérologiques de diagnostic dont les caractéristiques et la provenance sont connues. Ne pas utiliser de réactifs pour lesquels ces informations ne sont pas disponibles.

NOTE 2 Il convient de prendre en compte l'éventualité de réactions croisées avec d'autres micro-organismes dans les échantillons de l'environnement.

6.2 Milieux de culture

6.2.1 Milieu BCYE

6.2.1.1 Composition

Extrait de levure (qualité bactériologique)	10,0 g
Agar	12,0 g
Charbon actif	2,0 g

α -cétoglutarate, sel de monopotassium	1,0 g
Tampon ACES	
{Acide [<i>N</i> -(2-acétamido)-2-amino]éthanesulfonique}	10,0 g
Hydroxyde de potassium (KOH) (pastilles)	2,8 g
Chlorhydrate de <i>L</i> -cystéine monohydraté	0,4 g
Pyrophosphate de fer(II) [Fe ₄ (P ₂ O ₇) ₃]	0,25 g
Eau distillée, pour obtenir un volume total de	1 000 ml

NOTE — Consulter les recommandations du fabricant concernant la concentration en agar à ajouter pour obtenir la gélification adéquate.

6.2.1.2 Préparation

a) Solutions de cystéine et de fer

Préparer des solutions fraîches de chlorhydrate de *L*-cystéine et de pyrophosphate de fer(III) en ajoutant respectivement 0,4 g et 0,25 g dans 10 ml d'eau distillée. Stériliser chaque solution par filtration sur membrane filtrante, la dimension moyenne des pores étant de 0,22 μ m. Conserver les solutions dans des récipients stériles propres, à une température de $-(20 \pm 3)$ °C, pour une durée n'excédant pas 3 mois.

b) Tampon ACES

Ajouter les granules d'ACES à 500 ml d'eau distillée et les dissoudre en les plaçant dans un bain d'eau à (45 à 50) °C. Ajouter par ailleurs à 480 ml d'eau distillée toutes les pastilles d'hydroxyde de potassium et les dissoudre en agitant doucement. Pour la préparation du tampon ACES, mélanger les deux solutions.

NOTE — Le tampon ACES peut provoquer la dénaturation de l'extrait de levure si l'étape suivante n'est pas suivie.

c) Milieu final

ISO 11731:1998
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d04998968/iso-11731-1998>

Ajouter successivement aux 980 ml de tampon ACES, le charbon, l'extrait de levure et l' α -cétoglutarate. Préparer une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0,1 mol/l en dissolvant 5,6 g dans 1 l d'eau distillée. Préparer une solution d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 0,1 mol/l en ajoutant avec précaution 5,3 ml de H₂SO₄ à 1 l d'eau distillée. Utiliser les solutions à 0,1 mol/l d'hydroxyde de potassium ou à 0,1 mol/l d'acide sulfurique afin d'ajuster le pH à $6,9 \pm 0,2$. Ajouter l'agar, mélanger et stériliser par autoclavage à (121 ± 1) °C durant (15 ± 1) min (voir 6.2.4, premier alinéa). Après passage à l'autoclave, laisser refroidir jusqu'à (50 ± 2) °C dans un bain d'eau.

Ajouter stérilement la solution de *L*-cystéine et la solution de pyrophosphate de fer(III). Mélanger soigneusement entre les additions.

Répartir par volumes de 20 ml dans des boîtes de Pétri de 90 mm à 100 mm de diamètre. Le pH du milieu final est de $6,9 \pm 0,4$ à 25 °C. Laisser sécher l'excès d'humidité dans les boîtes et conserver à (4 ± 2) °C dans des récipients hermétiques, à l'obscurité, pendant 4 semaines au maximum.

6.2.2 BCYE sans *L*-cystéine (BCYE – Cys)

Préparer ce milieu en opérant de la même façon que pour le BCYE (6.2.1) sans ajouter de *L*-cystéine.

6.2.3 Milieu sélectif: BCYE avec suppléments sélectifs (milieu GVPC)

NOTE — Ce milieu est identique au BCYE, excepté l'ajout de trois antibiotiques et de glycine au milieu BCYE.

6.2.3.1 Suppléments sélectifs

Les concentrations finales dans le milieu GVPC doivent être comme suit:

Glycine exempte d'ammonium 3 g/l

Sulfate de polymyxine B	80 000 ui/l
Chlorhydrate de vancomycine	0,001 g/l
Cycloheximide	0,08 g/l

6.2.3.2 Préparation de suppléments antibiotiques

Ajouter la quantité appropriée (en général 200 mg) de sulfate de polymyxine B à 100 ml d'eau distillée pour obtenir une concentration de 14 454 ui/ml. Mélanger et stériliser par filtration sur membrane, comme décrit en 6.2.1.2. Répartir par volumes de 5,5 ml dans des récipients stériles et conserver à $-(20 \pm 3)$ °C. Avant utilisation, décongeler à température ambiante.

Ajouter 20 mg de chlorhydrate de vancomycine à 20 ml d'eau distillée, mélanger et stériliser par filtration sur membrane (voir 6.2.1.2). Répartir par volumes de 1 ml dans des récipients stériles et conserver à $-(20 \pm 3)$ °C. Avant utilisation, décongeler à température ambiante.

Ajouter 2 g de cycloheximide à 100 ml d'eau distillée et stériliser par filtration sur membrane, comme décrit en 6.2.1.2. Répartir par volumes de 4 ml dans des récipients stériles et conserver à $-(20 \pm 3)$ °C. Avant utilisation, décongeler à température ambiante.

NOTE — Les suppléments antibiotiques peuvent être conservés congelés pendant une période maximale de 6 mois.

AVERTISSEMENT — Le cycloheximide est hépatotoxique. Des gants et un masque sont nécessaires lors de sa manipulation sous forme de poudre.

6.2.3.3 Préparation du milieu GVPC

Suivre les instructions données en 6.2.1.2, pour la préparation du milieu BCYE, en ajoutant 3 g de glycine exempte d'ammonium, après l'ajout de l' α -cétoglutarate. Ajuster ensuite le pH à $6,9 \pm 0,4$.

Après ajout de la L-cystéine et du fer, ajouter au milieu final un volume de chacun des trois suppléments antibiotiques ci-dessus (6.2.3.2). Mélanger soigneusement.

6.2.4 Contrôle de qualité des milieux

Le chauffage prolongé pendant la stérilisation ou à trop haute température doit être évité, car il peut affecter les qualités nutritionnelles du milieu BCYE. Des variations d'un lot à l'autre des composants du milieu (notamment l' α -cétoglutarate) peuvent également affecter les performances du milieu. C'est pourquoi il est essentiel de vérifier la qualité de chaque lot de milieu fraîchement préparé afin d'évaluer son aptitude à assurer la croissance de *L. pneumophila* de sérotype 1 en trois jours d'incubation.

Pour la plupart des bactéries, il est habituel d'évaluer l'aptitude des milieux de culture à leur croissance, au moyen de cultures d'organismes précédemment isolés, maintenues au laboratoire. Dans le cas des *Legionella*, cette méthode peut être source d'erreurs, dans la mesure où les *Legionella* peuvent s'adapter facilement à des milieux de culture qui ne supporteraient pas l'isolement primaire de souches «sauvages». C'est pourquoi il est recommandé d'employer le mode opératoire suivant pour évaluer si le milieu gélosé sélectif GVPC convient aux *Legionella*.

Procéder selon l'une des deux méthodes suivantes:

- utiliser des boîtes provenant d'un précédent lot de milieu GVPC reconnu apte à la croissance de *Legionella* avec des boîtes d'un nouveau lot de milieu et les ensemercer avec un échantillon d'eau contenant des *Legionella*, ou
- obtenir une souche lyophilisée de *Legionella pneumophila* du sérotype 1 à partir d'une collection de cultures de référence reconnue au plan national. La reconstituer et la récupérer comme recommandé, puis la repiquer sur le milieu BCYE (6.2.1) pour la purifier. Si une culture type n'est pas disponible, utiliser une souche de *L. pneumophila* du sérotype 1 fraîchement isolée et confirmée. Les souches de *L. pneumophila* doivent être remplacées au plus tard après 10 repiquages. Après incubation, faire à partir de la culture qui s'est produite une suspension tout juste visible à l'œil nu, et répartir par volumes de 1 ml dans du bouillon au glycérol stérile (6.3.34) pour une conservation à $-(20 \pm 3)$ °C, ou bien dans une solution saline de Page (6.3.2.1) ou de l'eau distillée pour une conservation à $-(70 \pm 5)$ °C. Étaler une suspension de chaque souche sur milieu BCYE pour

identification et enregistrement de l'espèce et du sérotype de *Legionella* (voir 9.3). Avant utilisation, décongeler à température ambiante une suspension mère ou plusieurs souches. Agiter soigneusement, attendre 5 min à 10 min pour permettre la déposition des aérosols, puis ensemercer un volume défini (par exemple 0,1 ml) sur chacune des deux boîtes de milieu GVPC provenant du lot à tester.

Après incubation, enregistrer et comparer les résultats afin de s'assurer qu'il y a similitude dans la morphologie et le nombre des colonies (9.2.6).

6.3 Réactifs

6.3.1 Tampon acide

Préparer une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,2 mol/l (solution A) (voir note). Préparer une solution de chlorure de potassium (KCl) à 0,2 mol/l en dissolvant 14,9 g de KCl dans 1 l d'eau distillée (solution B). Pour la préparation du tampon acide, mélanger 3,9 ml de la solution A et 25 ml de la solution B. Ajuster le pH à $2,2 \pm 0,2$ en ajoutant une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1 mol/l. Conserver dans un récipient en verre bouché, à l'obscurité et à température ambiante, pendant un mois au maximum.

NOTE — Pour préparer une solution d'acide chlorhydrique à 0,2 mol/l, ajouter 17,4 mol de HCl concentré (1,18 g/ml, teneur minimale 35,4 %), ou 20 ml de HCl concentré (1,16 g/ml, teneur minimale 31,5 %) à 1 l d'eau distillée.

6.3.2 Diluants

6.3.2.1 Solution saline de Page.

Composition

Chlorure de sodium (NaCl) 0,120 g

Sulfate de magnésium ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0,004 g

Chlorure de calcium ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) 0,004 g

Hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4) 0,142 g

Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) 0,136 g

Eau distillée 1 000 ml

Ajouter les produits chimiques à l'eau distillée. Laisser dissoudre, mélanger soigneusement et stériliser par autoclavage à (121 ± 1) °C pendant (15 ± 1) min (voir 6.2.4, premier alinéa).

NOTE — Afin d'obtenir une préparation précise, il est recommandé de préparer 10 l de la solution saline de Page et de les répartir en quantités plus faibles pour les stériliser par autoclavage à (121 ± 1) °C pendant (20 ± 1) min.

6.3.2.2 Solution de Ringer diluée.

Utiliser une préparation disponible dans le commerce (généralement sous forme de tablettes) pour préparer une dilution 1:40 de solution de Ringer. La répartir comme prescrit et la passer à l'autoclave à (121 ± 1) °C pendant (20 ± 1) min.

NOTE — Il s'agit d'une dilution 1:10 d'une solution de Ringer 1:4.

6.3.2.3 Tampon phosphaté salé (pH 7,5).

Utiliser une préparation disponible dans le commerce et la reconstituer conformément aux instructions du fabricant.

6.3.2.4 Solution salée formolée.

Préparer cette solution en ajoutant 20 ml d'une solution aqueuse de formaldéhyde à 37 % (fraction volumique) à 980 ml de tampon phosphaté salé (6.3.2.3).

6.3.3 Réactifs sérologiques

6.3.3.1 Sérum anti- *Legionella pneumophila* et autres espèces de *Legionella*.

Pour identifier la *Legionella pneumophila*, utiliser des préparations d'anticorps polyclonales ou monoclonales capables de réagir avec tous les sérogroupes connus de *Legionella pneumophila*. S'il est nécessaire d'identifier des espèces autres que *L. pneumophila* ou des sérogroupes de *L. pneumophila*, utiliser des antisérums spécifiques.

6.3.3.2 Conjugué FITC (conjugué d'isothiocyanate de fluorescéine anti-lapin).

Il s'agit de conjugués FITC développés contre les immunoglobulines de lapin, disponibles dans le commerce.

NOTE — Des conjugués différents sont nécessaires pour une utilisation avec des antisérums développés sur d'autres animaux.

6.3.3.3 Milieu de montage au glycérol.

Utiliser un milieu disponible dans le commerce, ou le préparer en ajoutant 1 ml de tampon salé au phosphate de potassium (pH 8,5) à 9 ml de glycérol (neutre).

6.3.3.4 Bouillon au glycérol.

Dissoudre 5 g d'un bouillon nutritif déshydraté disponible dans le commerce dans 170 ml d'eau distillée et ajouter 30 ml de glycérol. Mélanger soigneusement et répartir dans des bouteilles en verre de silice propres et sèches, par volumes de 2 ml. Stériliser par autoclavage à (121 ± 1) °C pendant (20 ± 1) min. Conserver à température ambiante jusqu'à usage.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

7 Appareillage

Équipement courant de laboratoire et

ISO 11731:1998

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d084cddc-b9a-4e01-84db-b9d04991096/iso-11731-1998>

7.1 Boîtes de Petri stériles, d'un diamètre nominal de 90 mm ou 100 mm.

7.2 Incubateur, pouvant être maintenu à (36 ± 1) °C.

7.3 Lampe à ultraviolets, émettant une lumière d'une longueur d'onde de (360 ± 20) nm.

7.4 Support de filtre et entonnoir, convenant pour la filtration de volumes d'eau de 500 ml à 10 l.

Les équipements de filtration doivent résister à l'autoclave. Le diamètre des filtres peut varier de 47 mm à 142 mm. Les appareils de filtration les plus grands sont généralement en acier inoxydable.

7.5 Pompe péristaltique pour filtration sur membrane par pression positive, d'un débit pouvant atteindre 3 l/min, avec variateur de vitesse. Il est également permis d'utiliser un compresseur et un récipient sous pression.

NOTE — Au lieu d'une filtration par pression positive, des systèmes de filtration sous vide peuvent également être utilisés pour de petits volumes d'échantillons.

7.6 Membranes filtrantes en nylon ou en polycarbonate, d'un diamètre de 47 mm à 142 mm, avec des pores de dimension nominale 0,22 µm ou 0,45 µm.

NOTE — Bien que des membranes des deux dimensions de pores soient utilisées avec succès dans l'isolement des micro-organismes *Legionella*, leur efficacité comparée n'est pas connue. Lorsqu'elles sont utilisées, les membranes en polycarbonate ont des débits plus réduits, ce qui augmente la durée de filtration.

7.7 Tubes en silicone, de diamètres interne et externe comme spécifiés par le fabricant de la pompe péristaltique (7.5), mais avec une épaisseur des parois d'au moins 1,5 mm.

7.8 Source de chaleur, telle qu'une plaque chauffante ou un brûleur à gaz à couronne.

7.9 Centrifugeuse, capable d'atteindre $(6\,000 \pm 100)$ g, munie de godets de sécurité.

7.10 Agitateur rotatif, capable d'atteindre au moins (200 ± 5) r/min.

7.11 Bain d'eau à ultrasons, adapté à une utilisation avec des échantillons d'eau de 25 ml au maximum.

7.12 Bain d'eau, pouvant être maintenu à (50 ± 1) °C.

7.13 Verrerie.

Stériliser toute la verrerie soit à (170 ± 5) °C pendant 1 h dans un four ou à (121 ± 1) °C pendant 20 min à l'autoclave.

7.14 Microscopes.

7.14.1 Microscope équipé pour la fluorescence.

Microscope binoculaire équipé d'un éclairage fluorescent incident. La fente d'éclairage doit être constituée de diaphragmes de champ et d'ouverture, d'un dispositif d'arrêt de la lumière excitatrice, de miroirs diviseurs dichroïques, d'un filtre de suppression correspondant et d'un support de lampe. Le microscope doit être équipé d'un objectif à immersion dans l'huile ou l'eau (au moins $\times 40$) et d'oculaires de $\times 8$ ou $\times 10$.

7.14.2 Microscope stéréoscopique pour boîtes, d'un grossissement d'au moins $\times 30$ et d'un éclairage incident oblique.

8 Échantillonnage

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8.1 Récipients d'échantillonnage

Les échantillons d'eau (1 l, en général) doivent être recueillis dans des récipients en verre, en polyéthylène ou récipients similaires. S'ils ont été utilisés auparavant, ils doivent être nettoyés, rincés à l'eau distillée ou à l'eau du robinet, avant d'être stérilisés par autoclavage pendant 20 min à une température de (121 ± 1) °C. Les récipients qui ne résistent pas à l'autoclavage doivent au lieu de cela être pasteurisés à l'eau chaude courante (> 70 °C) ou à la vapeur pendant une durée d'au moins 5 min. Des récipients stériles de plus petite dimension doivent être utilisés pour le prélèvement du biofilm, de dépôts ou de sédiments. Les récipients à large ouverture recevant le biofilm, etc., doivent être équipés de bouchons à vis.

Il convient que les matériaux composant les récipients d'échantillonnage soient adaptés au contact de l'eau potable. Le volume des échantillons prélevés dépend de la nature de l'eau et de l'objet de l'examen effectué.

L'accès à certains points d'échantillonnage peut être difficile, ce qui peut entraîner un manque de sûreté dans l'utilisation des récipients en verre, en raison des risques de casse. L'usage de récipients de sécurité en verre enveloppés dans du plastique est acceptable.

Les détails relatifs à l'origine et au volume des échantillons ainsi qu'à la présence et à la nature de tout biocide doivent être enregistrés et transmis au laboratoire avec les échantillons, afin de faciliter l'examen. Pour des raisons de sécurité et d'analyse, il est déconseillé d'examiner les échantillons d'origine inconnue ou prélevés sur des eaux de refroidissement ou des eaux de traitement, à moins qu'ils ne soient accompagnés d'informations adéquates.

8.2 Échantillonnage en présence de biocide

Si l'échantillon d'eau contient ou est supposé contenir un biocide oxydant, ajouter un excès d'agent neutralisant dans le récipient avant ou au moment de l'échantillonnage.

NOTE — Le chlore, ainsi que d'autres biocides oxydants, sont neutralisés par ajout dans le récipient de thiosulfate de potassium ou de thiosulfate de sodium. Pour d'autres biocides, l'ajout d'un agent neutralisant universel n'est pas encore possible.