
**Qualité de l'eau — Recherche et
dénombrement des *Escherichia coli* et des
bactéries coliformes —**

**Partie 1:
Méthode par filtration sur membrane**

iTeh STANDARD PREVIEW

*Water quality — Detection and enumeration of Escherichia coli and
coliform bacteria —*

Part 1: Membrane filtration method

ISO 9308-1:2000

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-
b067ed521274/iso-9308-1-2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000)



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)

ISO 9308-1:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

© 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 22 749 09 47
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 et verrerie	3
6 Milieux de culture et réactifs	4
7 Échantillonnage	4
8 Mode opératoire	4
9 Expression des résultats	5
10 Rapport d'essai	5
11 Assurance qualité	6
Annexe A (informative) Informations microbiologiques complémentaires sur les coliformes	7
Annexe B (normative) Milieux de culture et réactifs	8
Bibliographie	12

iTech STANDARD PREVIEW
 (standards.itih.ai)
 ISO 9308-1:2000
<https://standards.itih.ai/catalog/standards/sist/85134bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

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 9308 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 9308-1 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 9308-1:1990), dont elle constitue une révision technique.

L'ISO 9308 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des Escherichia coli et des bactéries coliformes*:

- *Partie 1: Méthode par filtration sur membrane*
- *Partie 2: Méthode par enrichissement en milieu liquide*
- *Partie 3: Méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour la recherche et le dénombrement des E. coli dans les eaux de surface et les eaux résiduaires*

L'annexe B constitue un élément normatif de la présente partie de l'ISO 9308. L'annexe A est donnée uniquement à titre d'information.

Introduction

La présence et l'étendue de la pollution fécale est un facteur important dans l'évaluation de la qualité d'une masse d'eau ainsi que du risque infectieux représenté pour la santé humaine. L'examen d'échantillons d'eau pour y rechercher des *Escherichia coli*, normalement présents dans les intestins de l'homme et des animaux homéothermes, fournit une indication sur ce type de pollution. Les résultats de l'examen des bactéries coliformes peuvent s'avérer plus difficiles à interpréter en raison du fait que certains coliformes vivent également dans le sol et dans les eaux douces de surface, et ne sont donc pas toujours d'origine intestinale. La présence de bactéries coliformes peut donc, bien que ce ne soit pas la preuve d'une contamination d'origine fécale, indiquer une défaillance du traitement ou de la distribution de l'eau. L'identification des souches isolées permet quelquefois d'apporter une indication quant à leur origine.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 9308-1:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9308-1:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

Qualité de l'eau — Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes —

Partie 1: Méthode par filtration sur membrane

1 Domaine d'application

La présente partie de ISO 9308 décrit une méthode de référence (essai standard) pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes présents dans l'eau destinée à la consommation humaine. L'essai standard consiste en une filtration sur membrane, suivie d'une mise en culture dans une gélose de différenciation et d'un calcul du nombre des organismes cibles présents dans l'échantillon.

L'essai standard étant peu sélectif, les bactéries endommagées peuvent être détectées. En raison du caractère peu sélectif de cette méthode, la flore bactérienne générale peut perturber la fiabilité du dénombrement des bactéries coliformes et des *E. coli*, par exemple, dans certaines eaux potables, telles que les eaux de puits peu profonds, qui n'ont pas été désinfectées et abritent une importante flore interférente. La présente partie de ISO 9308 est donc recommandée pour les eaux désinfectées et autres eaux potables, ne contenant qu'un petit nombre de bactéries.

La présente partie de ISO 9308 inclut une méthode rapide (essai rapide) de recherche des *E. coli* seuls dans les eaux destinées à la consommation humaine, en moins de 24 h, et qui peut s'avérer utile dans les cas où il y a besoin d'une information rapide. L'essai rapide consiste en une filtration sur membrane, suivie d'une mise en culture dans des conditions sélectives et d'un calcul des *E. coli* présents dans l'échantillon.

L'essai standard et l'essai rapide décrits dans la présente partie de ISO 9308 peuvent être appliqués à d'autres types d'eau, à condition que les matières en suspension ou la microflore ne créent pas d'interférence avec la filtration, la mise en culture et le comptage.

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 9308. 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 9308 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/CEI Guide 2, *Normalisation et activités connexes — Vocabulaire général*.

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 micro-organismes sur milieu de culture.*

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente partie de ISO 9308, les termes et définitions donnés dans l'ISO/CEI Guide 2 ainsi que les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

bactéries lactose-positives

(essai standard) bactéries pouvant former des colonies en aérobiose à (36 ± 2) °C sur un milieu de culture lactosé sélectif et différentiel avec production d'acide dans les (21 ± 3) h

3.2

bactéries coliformes

(essai standard) bactéries lactose-positives comme définies en 3.1 et qui sont oxydase-négatives

3.3

Escherichia coli

(essai standard) bactéries coliformes comme définies en 3.2 et qui produisent également de l'indole à partir du tryptophane dans les (21 ± 3) h à $(44 \pm 0,5)$ °C

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9308-1:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000)

3.4

Escherichia coli

(essai rapide) bactéries résistant à la bile et pouvant produire de l'indole à partir du tryptophane dans les (21 ± 3) h à $(44 \pm 0,5)$ °C

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

4 Principe

4.1 Description générale de la méthode

La méthode est fondée sur la filtration sur membrane et comprend deux parties, l'essai standard de référence et l'essai rapide optionnel, qui peuvent être réalisées en parallèle comme décrit ci-dessous. L'essai standard comprend une incubation de la membrane sur un milieu sélectif suivie d'une caractérisation biochimique des colonies typiques lactose-positives, dont découlent la recherche et le dénombrement des bactéries coliformes et des *E. coli*, en deux à trois jours. L'essai rapide consiste en deux étapes d'incubation permettant la recherche et le dénombrement des *E. coli* dans les (21 ± 3) h. Si ces deux essais sont appliqués en parallèle, la valeur correspondant au résultat final des *E. coli* doit être la plus élevée des deux.

4.2 Filtration et incubation

Filtration des prises d'essai de l'échantillon sur des membranes retenant les bactéries. Une membrane est placée sur un milieu de culture sélectif gélosé lactosé, incubé à (36 ± 2) °C pendant (21 ± 3) h (essai standard), et une autre membrane, pour l'essai rapide, est placée sur un milieu de culture de gélose de la caséine (digestat tryptique), incubé à (36 ± 2) °C pendant 4 h à 5 h, puis à $(44 \pm 0,5)$ °C pendant 19 h à 20 h sur un milieu gélosé contenant de la caséine (digestat tryptique) et des sels biliaires.

4.3 Évaluation et confirmation, essai standard

Comptage des colonies caractéristiques présentes sur la membrane comme étant des bactéries lactose-positives. Pour les bactéries coliformes et les *E. coli*, repiquage de colonies caractéristiques choisies aléatoirement pour essais de confirmation: oxydase et production d'indole. Calcul du nombre de bactéries coliformes lactose-positives et des *E. coli* susceptibles d'être présents dans 100 ml d'échantillon.

4.4 Évaluation et confirmation, essai rapide

Comptage des colonies présentes sur la membrane et pouvant produire de l'indole à partir du tryptophane présent dans le milieu de culture gélosé comme étant des *E. coli*. Calcul du nombre d'*E. coli* susceptibles d'être présents dans 100 ml d'échantillon.

5 Appareillage et verrerie

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

5.1 Appareil de stérilisation à la vapeur (autoclave).

Tout appareil ou toute verrerie fourni(e) non stérile doit être stérilisé(e) conformément aux instructions de l'ISO 8199.

5.2 Bain d'eau et/ou incubateur, réglable à (36 ± 2) °C.

5.3 Bain d'eau et/ou incubateur, réglable à $(44 \pm 0,5)$ °C.

NOTE Pour l'essai rapide, il est possible de remplacer les incubateurs 5.2 et 5.3 par un incubateur programmable avec double réglage: (36 ± 2) °C et $(44 \pm 0,5)$ °C.

5.4 pH-mètre, d'une exactitude de $\pm 0,1$.

ISO 9308-1:2000

<http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/85f34bda-4155-460c-b693-b067ed521274/iso-9308-1-2000>

5.5 Appareillage de filtration sur membrane, conformément à l'ISO 8199.

5.6 Membranes filtrantes, composées d'esters de cellulose, généralement d'environ 47 mm ou 50 mm de diamètre, présentant des caractéristiques de filtration équivalentes à une porosité nominale de 0,45 µm, munies, de préférence, d'une grille-repère.

Les filtres doivent être exempts de propriétés susceptibles d'inhiber ou au contraire de favoriser la croissance bactérienne, et l'encre avec laquelle la grille est imprimée ne doit pas affecter la flore bactérienne. Si elles ne sont pas livrées stériles, elles doivent être stérilisées conformément aux instructions du fabricant. Il convient de tester chaque lot de membranes conformément à l'ISO 7704 quant à son aptitude à l'essai, étant donné que l'utilisation de différentes marques de filtre peut entraîner des différences dans le développement de la coloration.

NOTE Les membranes filtrantes vertes peuvent être utiles dans le cadre de la méthode rapide car elles facilitent la détection des colorations.

5.7 Pinces à bouts arrondis, pour la manipulation des membranes.

5.8 Lampe à rayons ultraviolets, d'une longueur d'onde de 254 nm (lampe basse pression à mercure).

AVERTISSEMENT — La lumière UV est à l'origine d'irritations oculaires et cutanées. Se munir de lunettes et de gants de protection.

5.9 Disques en papier-filtre, de diamètre d'au moins 47 mm.