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

**Partie 2:
Méthode du nombre le plus probable**

iTeh STANDARD PREVIEW
*Water quality — Enumeration of Escherichia coli and coliform
bacteria —
Part 2: Most probable number method*
(standards.iteh.ai)

ISO 9308-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9308-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2012

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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.org
Web www.iso.org

Version française parue en 2013

Publié 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	2
6 Milieux de culture et réactifs	3
6.1 Substances de base.....	3
6.2 Diluant.....	3
6.3 Antimousse B.....	3
7 Échantillonnage	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Préparation de l'échantillon.....	3
8.2 Ensemencement des milieux.....	3
8.3 Incubation et différenciation.....	4
8.4 Examen des résultats.....	4
9 Expression des résultats	4
10 Rapport d'essai	4
11 Assurance qualité	5
Annexe A (informative) Informations microbiologiques complémentaires sur les bactéries coliformes	6
Annexe B (normative) Scelleuse Quanti-Tray et calcul des résultats	7
Annexe C (informative) Composition du milieu Colilert-18	40
Annexe D (informative) Validation de Colilert-18/Quanti-Tray⁸⁾ pour le dénombrement des <i>E. coli</i> et des bactéries coliformes présentes dans l'eau	42
Bibliographie	43

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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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'ISO 9308-2 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 9308-2:1990), qui a fait l'objet d'une révision technique.

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

- *Partie 1: Méthode par filtration sur membrane dans des eaux contenant peu de flore bactérienne de fond*
- *Partie 2: Méthode du nombre le plus probable* ISO 9308-2:2012
- *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* <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-33482110906/iso-9308-2-2012>

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* (*E. 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 une infiltration d'eau dans le système de distribution de l'eau.

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) attire l'attention sur le fait que la conformité au présent document peut impliquer l'utilisation de brevets concernant Colilert-18, Quanti-Tray et Quanti-Tray 2000 donnés dans le présent document.

L'ISO ne prend pas position en ce qui concerne la preuve, la validité et le domaine d'application du droit de propriété industrielle concerné.

Le titulaire de ce brevet a assuré à l'ISO qu'il était disposé à négocier les licences, à titre gracieux ou dans des conditions raisonnables et non discriminatoires, avec des demandeurs du monde entier. À cet égard, la déclaration du titulaire de ce brevet est enregistrée auprès de l'ISO. Il est possible d'obtenir des informations aux adresses suivantes:

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, Maine 04092 États-Unis

ITh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle autres que ceux identifiés ci-dessus. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO (<http://www.iso.org/patents>) et le CEI (<http://patents.iec.ch>) tiennent à jour des bases de données en ligne des brevets correspondant à leurs normes. Les utilisateurs sont encouragés à consulter les bases de données afin d'obtenir les informations les plus récentes sur les brevets.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9308-2:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>

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

Partie 2: Méthode du nombre le plus probable

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur de la présente partie de l'ISO 9308 connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. La présente Norme internationale ne prétend pas traiter tous les éventuels problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur.

IMPORTANT — Il est indispensable que les essais menés selon la présente partie de l'ISO 9308 soient effectués par un personnel adéquatement qualifié.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 9308 spécifie une méthode de dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans l'eau. La méthode est basée sur la croissance d'organismes cibles dans un milieu liquide et sur le calcul du « nombre le plus probable » d'organismes en fonction de tables NPP. Cette méthode peut être appliquée à tous les types d'eau, y compris ceux contenant une quantité appréciable de matière en suspension et des nombres importants de bactéries hétérotrophes. Cependant, elle ne doit pas être utilisée pour dénombrer les bactéries coliformes dans l'eau de mer. Lorsqu'elle est utilisée pour dénombrer *Escherichia coli* dans l'eau de mer, une dilution 1→10 dans de l'eau stérile est généralement requise, bien que la méthode ait démontré son efficacité avec certaines eaux de mer ayant une concentration en sel inférieure à la normale. En l'absence de données étayant l'utilisation de la méthode sans dilution, une dilution 1→10 est utilisée.

Cette méthode repose sur la détection des *Escherichia coli* en fonction de l'expression de l'enzyme β -D-glucuronidase et, par conséquent, ne permet pas de détecter les souches entérohémorragiques des *Escherichia coli*, qui n'expriment généralement pas cette enzyme. De plus, il existe un petit nombre d'autres souches d'*Escherichia coli* qui n'expriment pas la β -D-glucuronidase.

Le choix des essais utilisés lors de la détection et de la confirmation du groupe de bactéries coliformes, notamment *Escherichia coli*, peut être considéré comme faisant partie intégrante d'une séquence continue. Le niveau de confirmation avec un échantillon particulier dépend d'une part de la nature de l'eau et d'autre part des raisons de l'examen. L'essai décrit dans la présente partie de l'ISO 9308 fournit un résultat confirmé sans avoir besoin de confirmer les puits positifs.

NOTE Bien que cette méthode décrive l'utilisation d'un dispositif de dénombrement disponible dans le commerce, le milieu décrit ici peut également être utilisé dans un format NPP standard.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 8199, *Qualité de l'eau — Lignes directrices générales pour le dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture*

Guide ISO/CEI 2:2004, *Normalisation et activités connexes — Vocabulaire général*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants et ceux donnés dans le Guide ISO/CEI 2 s'appliquent.

3.1 bactérie coliforme

membre de la famille des *Entérobactéries* qui exprime l'enzyme β -D-galactosidase

3.2 *Escherichia coli*

membre de la famille des *Entérobactéries* qui exprime les enzymes β -D-galactosidase et β -D-glucuronidase

4 Principe

Un sachet de milieu déshydraté est ajouté à un échantillon d'eau (100 ml), ou à une dilution d'un échantillon complété à 100 ml. L'échantillon contenant le milieu est doucement agité pour garantir un mélange adéquat et pour dissoudre le milieu. L'échantillon contenant le milieu est versé dans des conditions aseptiques dans un Quanti-Tray¹⁾ ou un Quanti-Tray/2000¹⁾ pour dénombrer jusqu'à 201 organismes ou 2 419 organismes pour 100 ml, respectivement. Les plateaux sont étanchéifiés à l'aide d'une scelleuse Quanti-Tray¹⁾ puis incubés à (36 ± 2) °C pendant 18 h à 22 h.

Après l'incubation, les puits d'échantillon de couleur jaune dont l'intensité est identique ou plus prononcée que celle des puits du comparateur sont considérés comme étant positifs pour les bactéries coliformes. Les puits jaunes présentant également un certain degré de fluorescence sont considérés comme étant positifs pour *E. coli*.

À l'aide de tables statistiques ou d'un simple programme informatique, le nombre le plus probable (NPP) de bactéries coliformes et d'*E. coli* dans 100 ml d'échantillon peut être déterminé.

NOTE La coloration jaune peut être observée à l'œil nu et résulte de l'hydrolyse de l'orthonitrophénol-galactoside par l'enzyme β -D-galactosidase. La fluorescence peut être démontrée sous une lampe à rayons ultraviolets (365 nm) et résulte de l'hydrolyse de la molécule 4-méthylumbelliféryl-glucuronide (MUG) par l'enzyme β -D-glucuronidase pour produire le composé fluorescent méthylumbelliférone.

5 Appareillage et verrerie

Utiliser un matériel microbiologique de laboratoire 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 Four à air chaud, pour la stérilisation à la vapeur.

5.3 Incubateur, contrôlé par thermostat réglable à (36 ± 2) °C.

5.4 Scelleuse Quanti-Tray¹⁾

5.5 Récipients stériles à col large d'au moins 110 ml

1) Quanti-Tray est une appellation commerciale ou une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

5.6 Comparateur Quanti-Tray²⁾**5.7 Lampe à rayons ultraviolets, 365 nm.****5.8 Quanti-Tray²⁾ ou Quanti-Tray/2000²⁾, voir l'Annexe B.****6 Milieux de culture et réactifs****6.1 Substances de base**

La méthode utilise Colilert³⁾-18, un milieu basé sur la technologie Defined Substrate Technology disponible pour un échantillon de 100 ml sous la forme d'une poudre prête à l'emploi répartie dans des sachets. Chaque sachet contient suffisamment de milieu (2,8 g) pour un seul essai. Le milieu est conservé dans des conditions ambiantes (2 °C à 25 °C) à l'abri de la lumière directe du soleil et il convient de l'utiliser avant la date de péremption indiquée sur le sachet.

Le milieu est constitué de deux composants de façon à obtenir les concentrations finales données dans l'Annexe C.

6.2 Diluant

Pour les dilutions à employer avec Colilert³⁾-18, n'utiliser que de l'eau stérile, non inhibitrice et exempte d'oxydants (eau déminéralisée ou eau du robinet). L'utilisation de diluants à base d'eau saline ou peptonée tamponnée interfère avec les performances de l'essai.

6.3 Antimousse B

L'antimousse B est une suspension de silicone hydrosoluble active à 10 %.

7 Échantillonnage

Prélever les échantillons et les livrer au laboratoire conformément à l'ISO 19458.

8 Mode opératoire**8.1 Préparation de l'échantillon**

Il convient de transporter et de conserver les échantillons à (5 ± 3) °C conformément à l'ISO 19458 et de commencer l'analyse le jour du prélèvement ou dans les 18 h qui le suivent. Dans certains cas exceptionnels, les échantillons peuvent être conservés à (5 ± 3) °C pendant 24 h jusqu'à ce qu'ils soient examinés.

8.2 Ensemencement des milieux

Dans des conditions aseptiques, ajouter un seul sachet de milieu Colilert⁴⁾-18 (2,8 g) à chaque échantillon ou dilution de 100 ml. Une fois que le milieu s'est complètement dissous, l'échantillon contenant le milieu

2) Quanti-Tray est une appellation commerciale ou une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

3) Colilert est une appellation commerciale ou une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

4) Colilert et Quanti-Tray sont des appellations commerciales ou des marques déposées d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

est versé dans des conditions aseptiques dans un Quanti-Tray⁴⁾ ou Quanti-Tray⁴⁾/2000 puis étanchéifié à l'aide de la scelleuse Quanti-Tray⁴⁾. En général, il convient de diluer les échantillons d'eau de mer à 1→10 avec de l'eau stérile. Pour réduire au minimum la formation de bulles d'air dans les puits, les échantillons peuvent être préparés dans des flacons préalablement stérilisés contenant l'antimousse B. L'antimousse B peut aussi être ajouté dans chaque flacon à l'aide d'un flacon compte-gouttes. L'utilisation d'antimousse est facultative. L'échantillon d'eau dans lequel le Colilert⁴⁾-18 a été dissous peut également être réparti dans des tubes stériles pour déterminer le NPP selon un format NPP plus classique (par exemple, 1 × 50 ml et 5 × 10 ml). Si un volume de 100 ml volume est incubé, alors la méthode peut être utilisée comme test qualitatif de type présence/absence pour la détection des bactéries coliformes et *E. coli*. Si l'une de ces deux dernières approches est utilisée, il convient alors de réchauffer au préalable les tubes à (36 ± 2) °C pendant 20 min avant le début de l'incubation.

Même s'il est recommandé de diluer les échantillons d'eau de mer à 1→10 dans de l'eau déminéralisée avant de les examiner, il faut noter que dans certaines régions du monde, la concentration en sel de l'eau de mer est suffisamment faible pour effectuer une culture sans dilution. Si ce mode opératoire doit être utilisé, il convient de disposer de données de validation. La salinité de l'eau de mer varie considérablement et il incombe au laboratoire de déterminer si les échantillons d'eau de mer doivent être dilués ou non.

8.3 Incubation et différenciation

Incuber les Quanti-Tray⁴⁾ ensemencés pendant 18 h à 22 h à (36 ± 2) °C pour détecter les bactéries coliformes et *E. coli*.

8.4 Examen des résultats

Examiner le Quanti-Tray⁴⁾ ou le Quanti-Tray⁴⁾/2000 après une incubation de 18 h à 22 h et considérer que les réactions aux bactéries coliformes sont positives si les puits ont une couleur jaune identique ou plus prononcée que la coloration du comparateur Quanti-Tray. Examiner les plateaux sous une lampe à rayons ultraviolets (365 nm) dans une pièce sombre ou dans une chambre dont la lumière ambiante est tamisée. Considérer comme positifs à *E. coli* tous les puits jaunes présentant un certain degré de fluorescence. Si les résultats sont équivoques après 18 h (c'est-à-dire que la coloration jaune est moins prononcée que celle du comparateur), il convient de prolonger l'incubation jusqu'à 22 h. Les résultats positifs aux bactéries coliformes et à *E. coli* observés avant 18 h d'incubation et les résultats négatifs observés après 22 h sont également valides.

9 Expression des résultats

D'après le nombre de puits positifs présents sur un Quanti-Tray⁴⁾, le NPP/100 ml des bactéries coliformes et des *E. coli* peut être calculé en référence aux tables statistiques ou à l'aide d'un programme informatique de génération de NPP, voir les [Tableaux B.1](#) et [B.2](#).

10 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir au moins les informations suivantes:

- la méthode d'essai utilisée faisant référence à la présente partie de l'ISO 9308;
- toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- les résultats exprimés conformément à [l'Article 9](#);
- tout phénomène particulier observé au cours de l'analyse et toute opération non spécifiée dans la présente partie de l'ISO 9308 ayant pu influencer les résultats.

11 Assurance qualité

Le laboratoire doit être doté d'un système de contrôle de la qualité clairement défini garantissant que l'appareillage, les réactifs et les techniques sont adaptés à l'essai. L'utilisation de contrôles positifs, de contrôles négatifs et de blancs fait partie de l'essai.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9308-2:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>

Annexe A (informative)

Informations microbiologiques complémentaires sur les bactéries coliformes

En plus d'exprimer la β -D-galactosidase, les bactéries coliformes sont généralement des bactéries à Gram négatif, en forme de bâtonnets, ne formant pas de spores, présentant une réaction négative à l'oxydase, pouvant croître en aérobiose et éventuellement en anaérobiose en présence de sels biliaires (ou d'autres agents tensioactifs présentant des propriétés d'inhibition de croissance similaires), et habituellement capables de faire fermenter le lactose avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 h lorsqu'on les fait incuber à une température de (36 ± 2) °C. Outre le fait qu'elles expriment la β -D-glucuronidase, les *E. coli* sont des bactéries coliformes qui sont capables de produire de l'indole à partir du tryptophane dans les (21 ± 3) h à $(44 \pm 0,5)$ °C. Elles réagissent positivement à l'essai au rouge de méthyle et peuvent décarboxyler l'acide L-glutamique, mais ne sont pas capables de produire de l'acétylméthylcarbinol, d'utiliser le citrate comme seule source de carbone ou de croître dans un bouillon au cyanure de potassium (KCN).

Certaines souches d'*Escherichia coli* négatives à la β -D-glucuronidase, telles qu'*Escherichia coli* O157, ne sont pas détectées en tant qu'*E. coli*. Comme elles sont positives à la β -D-galactosidase, elles sont considérées comme des bactéries coliformes.

(standards.iteh.ai)

[ISO 9308-2:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>

Annexe B (normative)

Scelleuse Quanti-Tray⁵⁾ et calcul des résultats

B.1 Généralités

La scelleuse Quanti-Tray⁵⁾ est une scelleuse thermique qui forme un joint entre les puits du Quanti-Tray. La scelleuse distribue automatiquement le liquide dans les puits du Quanti-Tray ou Quanti-Tray/2000. Le Quanti-Tray est utilisé lorsque l'on prévoit des dénombrements inférieurs à 200 ufc/100 ml. Le Quanti-Tray/2000 peut être utilisé pour calculer des valeurs NPP pouvant atteindre 2 419 ufc/100 ml. Lors du calcul du NPP, les tables fournies avec les plateaux servent de référence pour tous les dénombrements. Un simple programme statistique peut aussi être utilisé pour calculer les résultats. Si nécessaire, le NPP peut être calculé manuellement à l'aide des modes opératoires donnés ci-après.

B.2 Calcul du nombre le plus probable

B.2.1 Calcul du NPP pour IDEXX Quanti-Tray⁵⁾ et Quanti-Tray/2000

B.2.1.1 Quanti-Tray (51 puits)

Le NPP de Quanti-Tray a été calculé pour la première fois à l'Université de Yale; un autre exemple d'utilisation de la dilution en série NPP est disponible auprès de la Food and Drug Administration des États-Unis, dans l'ouvrage intitulé *Bacteriological Analytical Manual* (disponible sur BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions, October 2010).

Chaque puits d'échantillon contient un volume d'environ 1,96 ml.

Le trop-plein peut contenir au moins 8,5 ml.

Pour calculer le NPP du Quanti-Tray ([Tableau B.1](#)), voir l'Équation (B.1):

$$N_{\text{NPP}} = N \cdot \ln [N / (N - X)] \quad (\text{B.1})$$

où

N_{NPP} est le nombre le plus probable;

N est le nombre total de puits (tubes) utilisés lors d'un essai;

X est le nombre de puits (tubes) positifs observés lors d'un essai.

B.2.1.2 Quanti-Tray⁵⁾/2000 (97 puits)

Le NPP du Quanti-Tray/2000 a été calculé pour la première fois conformément à la description donnée dans la Référence [1].

Les petits puits ont un volume moyen de 0,186 ml.

5) Quanti-Tray est une appellation commerciale ou une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

Les grands puits ont un volume moyen d'environ 1,86 ml (dix fois plus grands que les petits puits).

Le trop-plein peut contenir environ 11 ml.

Pour calculer le NPP du Quanti-Tray⁶⁾/2000 (Tableau B.2), voir l'Équation (B.2):

$$\sum_{i=1}^K \frac{V_i d_i P_i}{1 - e^{-V_i d_i N_{npp}}} = \sum_{i=1}^K V_i d_i n_i \tag{B.2}$$

où

d_i est le facteur de dilution au niveau i (par exemple, 0,1 pour une dilution 1→10);

K est le nombre de niveaux de dilution;

n_i est le nombre de puits au niveau i ;

N_{npp} est le nombre le plus probable;

P_i est le nombre de puits positifs au niveau i ;

V_i est le volume des puits au niveau i .

Les limites de confiance à 95 % peuvent être calculées ainsi:

$$T_0 = (\ln N_{npp} - 1,96) \times \varepsilon(\ln N_{npp})$$

$$T_1 = (\ln N_{npp} + 1,96) \times \varepsilon(\ln N_{npp})$$

où

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05b6929-1d9c-478b-86fe-3548911709b6/iso-9308-2-2012>
ISO 9308-2:2012

T_0 est la limite de confiance inférieure;

T_1 est la limite de confiance supérieure;

ε est l'erreur-type; et

$$\varepsilon(\ln N_{npp}) = \sqrt{N_{npp}^2 \sum_{i=1}^K \frac{V_i^2 d_i^2 n_i^2}{e^{-V_i d_i N_{npp}} - 1}} \tag{B.3}$$

6) Quanti-Tray est une appellation commerciale ou une marque déposée d>IDEXX Laboratories, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 9308 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

Tableau B.1 — NPP du Quanti-Tray à 51 puits

Nb de puits donnant une réaction positive	Nombre le plus probable (NPP) par échantillon de 100 ml	Limites de confiance à 95 %	
		Inférieure	Supérieure
0	< 1 ^a	0,0	3,7
1	1	0,3	5,6
2	2	0,6	7,3
3	3,1	1,1	9
4	4,2	1,7	10,7
5	5,3	2,3	12,3
6	6,4	3	13,9
7	7,5	3,7	15,5
8	8,7	4,5	17,1
9	9,9	5,3	18,8
10	11,1	6,1	20,5
11	12,4	7	22,1
12	13,7	7,9	23,9
13	15	8,8	25,7
14	16,4	9,8	27,5
15	17,8	10,8	29,4
16	19,2	11,9	31,3
17	20,7	13	33,3
18	22,2	14,1	35,2
19	23,8	15,3	37,3
20	25,4	16,5	39,4
21	27,1	17,7	41,6
22	28,8	19	43,9
23	30,6	20,4	46,3
24	32,4	21,8	48,7
25	34,4	23,3	51,2
26	36,4	24,7	53,9
27	38,4	26,4	56,6
28	40,6	28	59,5
29	42,9	29,7	62,5
30	45,3	31,5	65,6
31	47,8	33,4	69
32	50,4	35,4	72,5
33	53,1	37,5	76,2
34	56	39,7	80,1
35	59,1	42	84,4
36	62,4	44,6	88,8
37	65,9	47,2	93,7