

TP 01 Dénombrement des coliformes totaux et Coliformes fécaux

➤ Test de présomption

Réservé à la recherche des coliformes totaux

A partir de l'échantillon d'eau analysé, porter aseptiquement:

→ 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL (D/C) (voir Annexe8) muni d'une cloche de Durham.

→ 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL (S/C) (Annexe 8) muni d'une cloche de Durham.

→ 3 fois 0.1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL (S/C) muni d'une cloche de Durham.

-Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches et bien mélanger le milieu, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures

➤ Lecture

Seront considérés comme positif (+); les tubes présentant à la fois:

→Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche)

→Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).

➤ Test de confirmation

Encore appelé test de Mac Kenzie, et réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

- Les tubes de BCPL positifs, après l'agitation prélever de chacun d'eux quelques gouttes à l'aide d'une pipette pasteur pour faire le repiquage dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche.

- Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches et bien mélanger le milieu.

- L'incubation se fait à 44°C pendant 24heures.

➤ Lecture

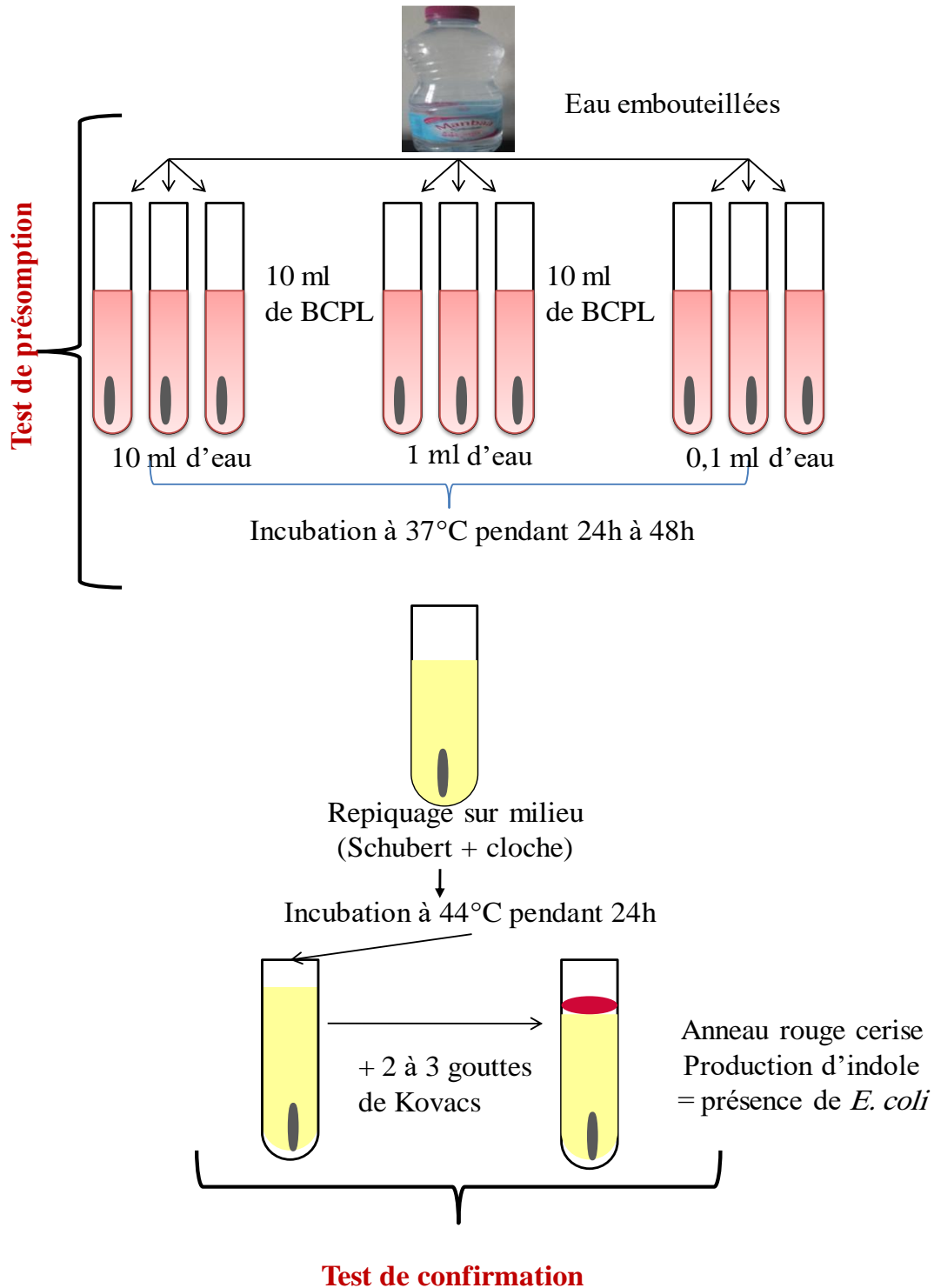
Seront considérés comme positifs(+) les tubes présentant à la fois:

→ Un dégagement du gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).

→Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs (**Rejsek, 2002**)

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP

Figure 1 Protocole expérimental de dénombrement des Coliformes totaux et fécaux



La table de Mac Grady NPP Extrait de la norme NFT 90-400

Nombre de tubes donnant un résultat positif			Indice NPP
	3 tubes de 10 ml	3 tubes de 1 ml	
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	29
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	190
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	1400

- ❖ Référence : Rejsek F. 2002. Analyse des eaux aspects réglementaires et techniques. Ed CRDP, Aquitaine. France. 358 p.