

# Mallette « Filtration sur membrane »

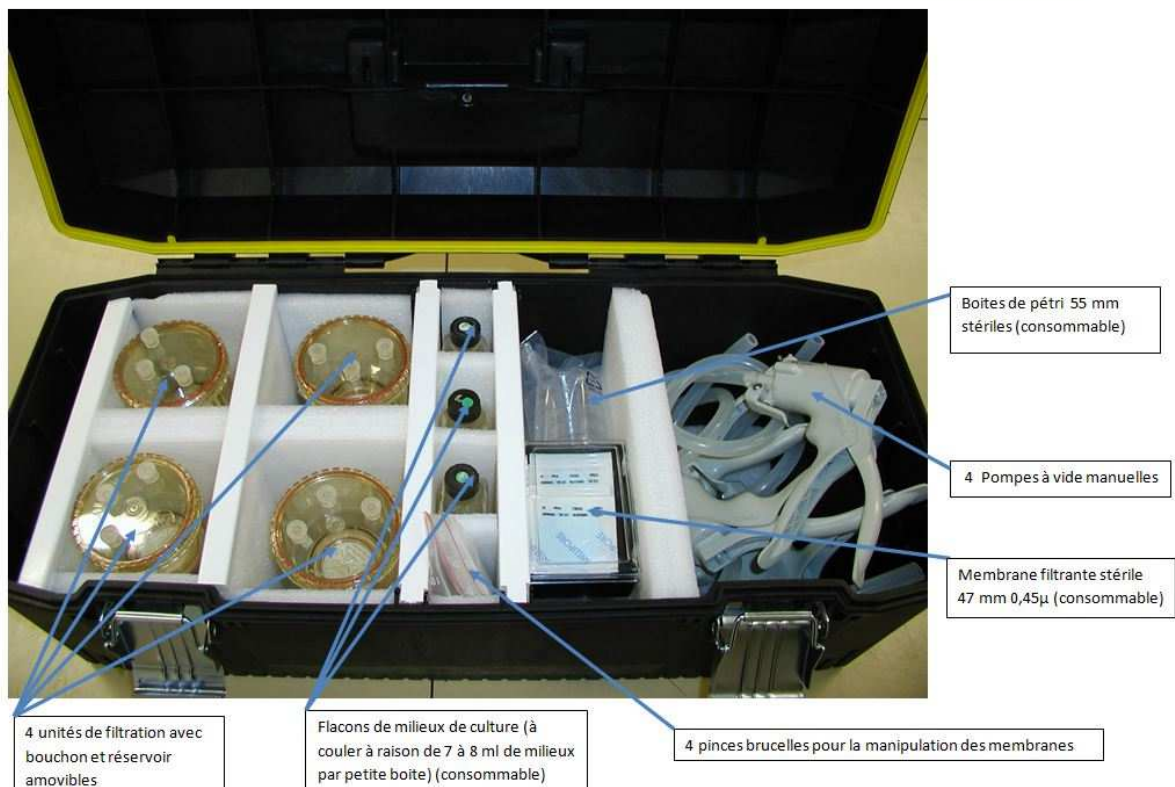
La filtration sur membrane est une technique de numération adaptée pour numérer des bactéries présentes à des concentrations très faibles dans l'eau. Pour pouvoir dénombrer ces bactéries, il est alors nécessaire d'analyser des volumes d'eau importants.

## 1 PRINCIPE

Les bactéries présentes dans l'échantillon à analyser sont retenues sur un filtre dont les pores sont inférieurs à la taille des bactéries (pore de 0,45  $\mu\text{m}$  de diamètre). Le filtre qui a retenu les bactéries contenues dans l'eau, est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié où les bactéries puisent les éléments nécessaires à sa croissance et se développent. Après incubation, les UFC (unités formants colonies) sont comptées pour évaluer la qualité microbiologique de l'eau. Selon le milieu de culture où est déposé le filtre, on met en évidence la présence de différents types de microorganismes.

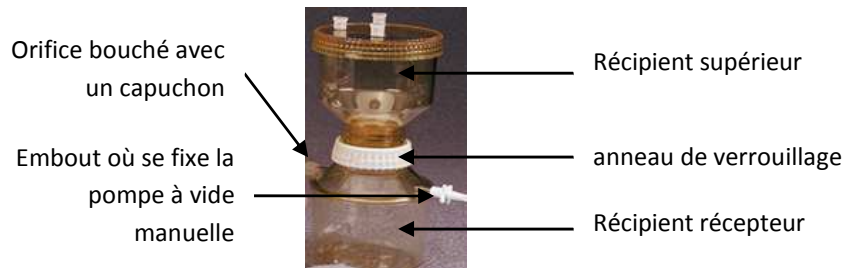
## 2 MATERIEL

CONTENU DE LA MALLETTE « FILTRATION SUR MEMBRANE »



Remarque : milieux de culture présents = 3 flacons de milieu PCA

## Mallette « Filtration sur membrane »



L'unité de filtration comprend un réceptier supérieur et un réceptier récepteur en polysulfone autoclavable et réutilisable. La membrane (filtre en acétate de cellulose de 47  $\mu\text{m}$  de diamètre) se fixe sur une plaque-support amovible située entre les deux réceptiers.

Les 2 joints toriques (rouges) de la plaque-support doivent être correctement positionnés pour assurer l'étanchéité du système : 1 des joints doit être positionné dans la rainure du dessous du réceptier supérieur et l'autre joint se place sur le dessous de la plaque-support. L'anneau de verrouillage serré à la main comprime les joints.

L'eau à analyser est déposée dans le réceptier supérieur (50 à 250 mL). L'aspiration de l'eau à analyser et son passage à travers le filtre est assurée par une pompe à vide manuelle branchée au réceptier récepteur. Le filtrat est récupéré dans le réceptier récepteur.

Ce type d'appareil existe également sous forme de rampe de filtration qui permet une analyse simultanée de plusieurs échantillons ou plusieurs recherches sur un même échantillon.



## Mallette « Filtration sur membrane »

### 3. MICROORGANISMES RECHERCHES, VOLUME FILTRE ET MILIEU DE CULTURE UTILISE (Usine d'eau minérale)

Micro-organismes recherchés	Volume d'eau filtré	Milieu de culture	Incubation
Coliformes thermotolérants	250 mL	Tergitol TTC	48h à 44°C
Entérocoques	250 mL	Slanetz TTC	48h à 37°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250 mL	Cétrimide	48h à 37°C
Micro-organismes revivifiables à 22°C	100 mL	PCA	72 h à 22°C
Micro-organismes revivifiables à 37°C	100 mL	PCA	48 h à 37°C
Moisissures et levures	100 mL	Sabouraud	72h à 22°C

### 4 MODE OPERATOIRE

- Désinfection du système de filtration avant filtration d'eau : après montage du système, désinfecter à l'éthanol puis rincer à l'eau stérile. Renouveler entre chaque filtration d'eaux différentes,
- Déposer délicatement à la pince désinfectée à l'éthanol, le filtre (veiller à ne pas déposer la protection du filtre en même temps que le filtre ou à la place du filtre car ce dernier est étanche et ne laisse pas filtrer l'eau), quadrillage du filtre vers le haut et bien centrée sur la plaque-support,
- Revisser le récipient supérieur pour assurer de l'étanchéité du système,
- Remplir le récipient supérieur avec l'eau à analyser jusqu'à la graduation adéquate (50 mL à 250 mL) et ne pas le refermer,
- Placer la pompe à vide manuelle puis filtrer en créant le vide,
- Rincer à l'eau stérile,
- Démonter le système,
- Retirer le filtre à l'aide d'une pince désinfectée à l'éthanol et le poser sur le milieu adéquat dans une boîte de Pétri de 5 cm de diamètre, quadrillage vers le haut, sans laisser de bulles d'air entre le filtre et le milieu de culture pour que tout le filtre soit au contact du milieu de culture,
- Incuber à la température choisie.

# Mallette « Filtration sur membrane »

## 5 EXPLOITATION DES RESULTATS

Indiquer les résultats de la filtration pour chaque bactérie recherchée dans un tableau indiquant la bactérie recherchée, le milieu utilisé, la température d'incubation, le volume d'eau filtré, l'aspect et l'interprétation des colonies suspectes numérotées, le critère microbiologique pour la bactérie recherchée et la conclusion en comparant votre résultat au critère microbiologique.

**Critères microbiologiques pour la numération de microorganismes revivifiables dans une eau destinée à la consommation humaine (extraits)**

<b>Microorganismes recherchés</b>	<b>Critères microbiologiques</b>
Micro-organismes revivifiables	Absence dans 100 mL
Coliformes fécaux	Absence dans 250 mL
...	...