
Norme internationale



6785

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Lait et produits laitiers — Recherche des *Salmonella*

Milk and milk products — Detection of Salmonella

Première édition — 1985-11-15

Corrigée et réimprimée — 1985-12-15

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6785:1985](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ecfda808-d4fd-4a29-8bfe-a169116978c3/iso-6785-1985>

CDU 637.1/.3 : 579.67'842.14

Réf. n° : ISO 6785-1985 (F)

Descripteurs : produit laitier, lait, analyse microbiologique, détection, salmonella.

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 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.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 6785 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cf1a808-d4fd-4a29-8bfe-16011a8752a1/iso-6785-1985>

NOTE — La méthode spécifiée dans la présente Norme internationale a été élaborée conjointement avec la Fédération internationale de laiterie (FIL) et l'Association des chimistes analytiques officiels (AOAC) et sera également publiée par ces organisations.

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

Lait et produits laitiers — Recherche des *Salmonella*

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la recherche des *Salmonella* dans le lait et les produits laitiers.

2 Référence

ISO 707, *Lait et produits laitiers — Méthodes d'échantillonnage*.

3 Définitions

Dans le cadre de la présente Norme internationale, les définitions suivantes sont applicables.

3.1 *Salmonella* : Micro-organismes formant des colonies typiques sur des milieux sélectifs solides et possédant des caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque les essais sont effectués conformément à la présente Norme internationale.

3.2 recherche des *Salmonella* : Détermination de la présence ou de l'absence de ces micro-organismes dans une masse ou un volume déterminé de produit, lorsque l'essai est exécuté selon la présente Norme internationale.

4 Principe

En général, la recherche des *Salmonella* nécessite quatre phases successives telles qu'indiquées en 4.1 à 4.4. Voir également le schéma du mode opératoire dans l'annexe.

4.1 Préenrichissement dans un milieu liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans le milieu de préenrichissement approprié, puis incubation à 37 °C durant 16 à 20 h.

4.2 Enrichissement dans des milieux liquides sélectifs

Ensemencement d'un milieu au tétrathionate et d'un milieu sélénite-cystine avec la culture obtenue (4.1). Incubation du milieu au tétrathionate à 43 °C et incubation du milieu sélénite-cystine à 37 °C durant deux périodes de 18 à 24 h.

4.3 Isolement et identification

À partir des cultures obtenues (4.2), ensemencement des deux milieux sélectifs solides (gélose au rouge de phénol et au vert brillant et gélose au sulfite de bismuth).¹⁾

Incubation à 37 °C et examen après 20 à 24 h, et si nécessaire, après 40 à 48 h, pour contrôler s'il y a présence de colonies, présumées être des *Salmonella* en raison de leurs caractéristiques.

4.4 Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *Salmonella* (4.3) et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

5 Milieux de culture, réactifs et sérums

5.1 Composants de base

Pour améliorer la reproductibilité des résultats, il est recommandé d'utiliser pour la préparation des milieux de culture, des composants de base déshydratés ou des milieux complets déshydratés. Les prescriptions du fabricant doivent être suivies scrupuleusement.

Les produits chimiques utilisés pour la préparation des milieux de culture et des réactifs doivent être de qualité analytique reconnue.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou déminéralisée, et être exempte de substances susceptibles d'inhiber la croissance des micro-organismes dans les conditions de l'essai.

Lorsque la gélose est spécifiée, la quantité utilisée doit varier conformément aux instructions du fabricant pour donner des milieux d'une fermeté appropriée.

Les mesurages de pH doivent être effectués à l'aide d'un pH-mètre, ces mesurages se référant à une température de 25 °C. Les ajustements éventuels sont faits par addition, soit d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 mol/l, soit d'une solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l.

Si les milieux de culture préparés et les réactifs ne sont pas utilisés extemporanément, ils doivent, sauf spécifications contraires, être conservés à l'obscurité, à une température comprise

1) La gélose au sulfite de bismuth permet de recueillir des souches de *Salmonella* fermentant le lactose.

entre 0 et +5 °C, pendant 1 mois au maximum, dans des conditions qui évitent toute modification de leur composition.

NOTE — Les systèmes de diagnostic rapide disponibles dans le commerce peuvent être utilisés à la place des milieux énumérés en 5.2.7, 5.2.8, 5.2.9 et 5.3; voir cependant 9.4.4.

5.2 Milieux de culture

5.2.1 Milieu de préenrichissement: eau peptonée tamponnée

Composition

Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique dodécahydraté (Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O)	9,0 g
Dihydrogène-orthophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)	1,5 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,0 ± 0,1.

Répartir le milieu, par quantités de 225 ml dans des flacons de 500 ml de capacité (ou des multiples de 225 ml dans des flacons de capacité adéquate).

Stériliser le milieu durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.2 Premier milieu d'enrichissement sélectif: bouillon au tétrathionate (Muller-Kauffmann)

5.2.2.1 Milieu de base

Composition

Extrait de viande	5,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium	3,0 g
Carbonate de calcium	45,0 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Ajouter les composants de base déshydratés ou le milieu de base complet déshydraté à l'eau, en portant et maintenant à ébullition jusqu'à dissolution complète des composants solubles.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,0 ± 0,1.

Stériliser le milieu de base durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.2.2 Solution de thiosulfate de sodium

Composition

Thiosulfate de sodium pentahydraté (Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O)	50,0 g
Eau, quantité suffisante pour	100 ml

Préparation

Dissoudre le thiosulfate de sodium dans une partie de l'eau.

Compléter au volume final.

Stériliser la solution durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.2.3 Solution d'iode

Composition

Iode	20,0 g
Iodure de potassium	25,0 g
Eau, quantité suffisante pour	100 ml

Préparation

Dissoudre l'iode et l'iodure de potassium dans un petit volume d'eau et ajouter l'iode.

Agiter jusqu'à dissolution complète.

Compléter au volume final.

Conserver la solution dans un récipient opaque complètement fermé.

5.2.2.4 Solution de vert brillant

Composition

Vert brillant	0,5 g
Eau	100 ml

Préparation

Ajouter le vert brillant à l'eau.

Conserver la solution au moins une journée à l'obscurité pour permettre l'autostérilisation.

5.2.2.5 Solution de bile de bœuf

Composition

Bile de bœuf desséchée	10,0 g
Eau	100 ml

Préparation

Dissoudre la bile de bœuf desséchée dans l'eau en portant à ébullition.

Stériliser la solution durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.2.6 Milieu complet*Composition*

Milieu de base (5.2.2.1)	900 ml
Solution de thiosulfate de sodium (5.2.2.2)	100 ml
Solution d'iode (5.2.2.3)	20 ml
Solution de vert brillant (5.2.2.4)	2 ml
Solution de bile de bœuf (5.2.2.5)	50 ml

Préparation

Ajouter stérilement au milieu de base les autres composants dans l'ordre donné ci-dessus.

Bien mélanger les liquides après chaque addition.

Répartir stérilement le milieu complet, par quantités de 100 ml, dans des flacons stériles de 500 ml de capacité.

Conserver à 0-5 °C à l'obscurité mais utiliser dans la semaine qui suit la préparation.

5.2.3 Deuxième milieu d'enrichissement sélectif: bouillon au sélénite-cystine

AVERTISSEMENT — Il convient d'être très prudent lors de l'utilisation en laboratoire de solutions de sélénite en raison de leur effet toxique potentiel. En aucun cas, il ne faut pipetter avec la bouche.

5.2.3.1 Milieu de base*Composition*

Tryptone	5,0 g
Lactose	4,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	10,0 g
Hydrogénosélénite de sodium	4,0 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les trois premiers ingrédients dans l'eau en portant et maintenant à ébullition durant 5 min. Après refroidissement ajouter l'hydrogénosélénite de sodium.

Ajuster le pH à 7,0 ± 0,1.

Ne pas stériliser à l'autoclave.

5.2.3.2 Solution de L-cystine*Composition*

L-cystine	0,1 g
Hydroxyde de sodium, solution, c(NaOH) = 1 mol/l	15 ml

Préparation

Compléter à 100 ml avec de l'eau stérile dans une fiole stérile.

Ne pas stériliser à l'autoclave

5.2.3.3 Milieu complet

Refroidir le milieu de base et ajouter stérilement la solution de L-cystine à raison de 0,1 ml pour 10 ml de milieu de base.

Ajuster le pH, si nécessaire, à 7,0 ± 0,1.

Ne pas stériliser à l'autoclave.

Répartir stérilement le milieu, par quantités nécessaires pour l'essai, dans des flacons stériles de capacité adéquate.

Utiliser le milieu le jour même de sa préparation.

5.2.4 Premier milieu d'identification: gélose au rouge de phénol et au vert brillant (Edel & Kampelmacher)**5.2.4.1 Milieu de base***Composition*

Extrait de viande en poudre	5,0 g
Peptone	10,0 g
Extrait de levure en poudre	3,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	1,0 g
Dihydrogène-orthophosphate de sodium (NaH ₂ PO ₄)	0,6 g
Agar-agar	12,0 à 18,0 g ¹⁾
Eau	900 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu de base complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,0 ± 0,1.

Répartir le milieu de base dans des tubes ou des flacons de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.4.2 Solution de sucres au rouge de phénol*Composition*

Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Rouge de phénol	0,09 g
Eau, quantité suffisante pour	100 ml

1) Se conformer aux instructions du fabricant.

Préparation

Dissoudre les ingrédients dans l'eau.
 Chauffer au bain d'eau durant 20 min à 70 °C.
 Refroidir à 55 °C et utiliser immédiatement.

5.2.4.3 Milieu complet

Composition

Milieu de base (5.2.4.1)	900 ml
Solution de sucres au rouge de phénol (5.2.4.2)	100 ml
Solution de vert brillant (5.2.2.4)	1 ml

Préparation

Ajouter stérilement la solution de vert brillant à la solution de sucres au rouge de phénol refroidie à 55 °C.
 Ajouter au milieu de base fondu et maintenu à 50-55 °C et mélanger.

5.2.4.4 Préparation des boîtes

Répartir le milieu complet refroidi à 45 °C, par quantités d'environ 15 ml, dans des boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre et laisser se solidifier.

Juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de milieu gélosé, de préférence après avoir retiré les couvercles et retourné les boîtes, dans une étuve ou un incubateur réglé à 50 ± 5 °C durant 30 min.

Les boîtes de milieu gélosé non séchées ne doivent pas être conservées plus de 4 h à la température du laboratoire ou plus de 24 h à 0-5 °C.

5.2.5 Second milieu d'identification : gélose au sulfite de bismuth

Composition

Peptone	10,0 g
Extrait de bœuf	5,0 g
Glucose	5,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique	4,0 g
Sulfate de fer(II)	0,3 g
Citrate de bismuth ammoniacal ¹⁾	1,85 g
Sulfite de sodium ¹⁾	6,15 g
Agar-agar	20,0 g
Vert brillant	0,025 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les ingrédients dans l'eau, en portant à ébullition durant environ 1 min.
 Ajuster le pH à 7,7 ± 0,1.

Refroidir entre 45 et 50 °C en agitant doucement le précipité en suspension.

Ne pas stériliser le milieu.

Répartir le milieu, par quantités de 20 ml, dans des boîtes de Petri stériles (de 90 mm de diamètre) et laisser se solidifier.

Juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de milieu gélosé, de préférence après avoir retiré les couvercles et retourné les boîtes, dans une étuve ou un incubateur réglé à 50 ± 5 °C durant 30 min.

Utiliser les boîtes séchées entre 24 et 48 h après leur préparation. Les conserver à l'obscurité.

5.2.6 Gélose nutritive

Composition

Extrait de viande	3,0 g
Peptone	5,0 g
Agar-agar	12,0 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants déshydratés du milieu ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,0 ± 0,1.

Répartir le milieu de culture dans des tubes ou des flacons stériles de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser le milieu durant 20 min à 121 ± 1 °C.

Préparation des boîtes de gélose nutritive

Verser environ 15 ml du milieu fondu dans des boîtes de Petri stériles (de 90 mm de diamètre) et procéder comme spécifié en 5.2.4.4.

5.2.7 Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (gélose TSI)

Composition

Extrait de viande	3,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Peptone	20,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Glucose	1,0 g
Citrate de fer(III)	0,3 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Rouge de phénol	0,024 g
Agar-agar	12,0 g
Eau	1 000 ml

1) Au lieu de ces composants, 8 g d'indicateur au sulfite de bismuth [Bi(SO₃)₃] peuvent être utilisés.

Préparation

Dissoudre les composants du milieu déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,4 \pm 0,1$.

Répartir le milieu, par quantités de 10 ml, dans des tubes de 17 à 18 mm de diamètre.

Stériliser le milieu durant 10 min à 121 ± 1 °C.

Laisser reposer en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2,5 cm de profondeur et une pente de 4 à 5 cm.

5.2.8 Gélose pour la recherche à l'uréase (Christensen)**5.2.8.1 Milieu de base****Composition**

Peptone	1,0 g
Glucose	1,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Dihydrogène-orthophosphate de potassium (KH_2PO_4)	2,0 g
Rouge de phénol	0,012 g
Agar-agar	15,0 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu de base complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de $6,8 \pm 0,1$.

Stériliser le milieu de base durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.2.8.2 Solution d'urée**Composition**

Urée	400 g
Eau, quantité suffisante pour	1 000 ml

Préparation

Dissoudre l'urée dans l'eau.

Stériliser par filtration et contrôler la stérilité. (Pour les détails relatifs à la technique de stérilisation par filtration, faire référence à tout manuel approprié de microbiologie.)

5.2.8.3 Milieu complet**Composition**

Milieu de base (5.2.8.1)	950 ml
Solution d'urée (5.2.8.2)	50 ml

Préparation

Ajouter stérilement la solution d'urée au milieu de base préalablement fondu puis refroidi à 45 °C.

Répartir le milieu complet, par quantités de 10 ml, dans des tubes stériles.

Laisser reposer en position inclinée.

5.2.9 Milieu de décarboxylation à la lysine**Composition**

Monohydrochlorure de L-lysine	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Glucose	1,0 g
Pourpre de bromocrésol	0,015 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $6,8 \pm 0,1$.

Répartir le milieu, par quantités de 5 ml, dans des tubes de culture d'environ 8 mm de diamètre et 160 mm de longueur.

Stériliser le milieu durant 10 min à 121 ± 1 °C.

5.3 Réactifs**5.3.1 Solution saline****Composition**

Chlorure de sodium	8,5 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre le chlorure de sodium dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,0 \pm 0,1$.

Répartir la solution dans des flacons ou dans des tubes, de sorte qu'après stérilisation, ils contiennent 90 à 100 ml de solution.

Stériliser la solution durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.3.2 Réactifs pour la recherche de β -galactosidase¹⁾

Préparation

5.3.2.1 Toluène

Dissoudre les composants dans l'eau.

5.3.2.2 Solution tampon

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $6,9 \pm 0,1$.

Composition

Dihydrogène-orthophosphate de sodium (NaH_2PO_4)	6,9 g
Hydroxyde de sodium, solution à environ 0,1 mol/l	3 ml (environ)
Eau, quantité suffisante pour	50 ml

Répartir 3 ml de milieu dans chacun des tubes.

Stériliser le milieu durant 15 min au maximum, à 121 ± 1 °C.

Préparation

Dissoudre le dihydrogène-orthophosphate de sodium dans environ 45 ml d'eau.

Ajuster le pH à $7,0 \pm 0,1$ avec environ 3 ml de la solution d'hydroxyde de sodium.

Compléter à 50 ml avec de l'eau.

5.3.3.2 Solution de créatine

Composition

Créatine monohydratée (<i>N</i> -amidinosarcosine)	0,5 g
Eau	100 ml

Préparation

Dissoudre la créatine monohydratée dans l'eau.

5.3.3.3 Solution éthanolique de naphтол-1

Composition

Naphтол-1	6 g
Éthanol, à 96 % (V/V)	100 ml

Préparation

Dissoudre le naphтол-1 dans l'éthanol.

5.3.3.4 Solution d'hydroxyde de potassium

Composition

Hydroxyde de potassium	40 g
Eau	100 ml

Préparation

Dissoudre l'hydroxyde de potassium dans l'eau.

5.3.4 Réactifs pour la réaction de l'indole

5.3.4.1 Milieu tryptone-tryptophane (de Ljutov)

Composition

Tryptone	10 g
Chlorure de sodium	5 g
DL-Tryptophane	1 g
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en portant à ébullition, et filtrer.

5.3.2.3 Solution d'ONPG

Composition

Orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside (ONPG)	0,08 g
Eau	15 ml

Préparation

Dissoudre l'ONPG dans l'eau à 50 °C.

Refroidir la solution.

5.3.2.4 Réactif complet

Composition

Solution tampon (5.3.2.2)	5 ml
Solution d'ONPG (5.3.2.3)	15 ml

Préparation

Ajouter la solution tampon à la solution d'ONPG.

5.3.3 Réactifs pour la réaction de Voges-Proskauer (méthode rapide de Barry et Feeney)

5.3.3.1 Milieu VP

Composition

Peptone	7,0 g
Glucose	5,0 g
Hydrogène-orthophosphate dipotassique (K_2HPO_4)	5,0 g
Eau	1 000 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standard/ist/6785-1985>
a169116978c3/iso-6785-1985

1) Un disque imprégné de β -galactosidase disponible dans le commerce peut être utilisé.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,5 \pm 0,1$.

Répartir 5 ml de milieu dans chacun des tubes.

Stériliser le milieu durant 15 min à 121 ± 1 °C.

5.3.4.2 Réactif de Kovacs

Composition

Diméthylamino-4 benzaldéhyde	5 g
Acide chlorhydrique, ρ 1,18 à 1,19 g/ml	25 ml
Méthyl-2 butanol-2	75 ml

Préparation

Mélanger les composants.

5.3.5 Gélose nutritive semi-solide

Composition

Extrait de viande	3,0 g
Peptone	5,0 g
Agar-agar	4 à 9 g ¹⁾
Eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés dans l'eau en portant à ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,0 \pm 0,1$.

Répartir le milieu dans des flacons de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser le milieu durant 15 min à 121 ± 1 °C.

Préparation des boîtes de gélose

Répartir le milieu complet, récemment préparé, dans des boîtes de Petri (de 90 mm de diamètre) par quantités d'environ 15 ml. Les boîtes ne doivent pas être séchées.

5.4 Sérums

On peut trouver dans le commerce plusieurs sérums anti-*Salmonella* c'est-à-dire des anti-sérums contenant un ou plusieurs groupes «O» (dénommés anti-sérums O monovalents ou polyvalents), des anti-sérums Vi et des anti-sérums contenant des anticorps pour un ou plusieurs facteurs «H» (dénommés anti-sérums H monovalents ou polyvalents). Pour chaque sérum, suivre les instructions d'utilisation données par le fabricant.

Tous les essais devront être faits afin de s'assurer que les anti-sérums utilisés conviennent pour la recherche de tous les sérotypes de *Salmonella*. Dans ce but on pourra se servir d'anti-

sérums préparés par un fournisseur dont la compétence est reconnue (par exemple, un organisme gouvernemental approprié).

6 Appareillage et verrerie

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, et notamment :

6.1 Appareillage

6.1.1 Appareils pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).

Le matériel en contact avec les milieux de culture, le diluant et l'échantillon, sauf s'il est livré stérile (particulièrement celui en plastique), doit être stérilisé

— soit au four en le maintenant à une température comprise entre 170 et 175 °C durant au moins 1 h;

— soit à l'autoclave en le maintenant à une température de 121 ± 1 °C durant au moins 20 min.

Un autoclave est également nécessaire pour la stérilisation des milieux de culture et des réactifs. Il doit être réglable à 121 ± 1 °C et à 115 ± 1 °C.

6.1.2 Enceinte de séchage, étuve ou incubateur, ventilé(e) (permettant de sécher la surface des milieux gélosés coulés en boîte), réglable à 50 ± 5 °C.

6.1.3 Incubateur, réglable à 37 ± 1 °C.

6.1.4 Incubateur, réglable à $43 \pm 0,5$ °C.

6.1.5 Bains d'eau, réglables à 45 ± 1 °C et à 37 ± 1 °C.

6.1.6 Homogénéisateurs

L'un des appareils suivants doit être utilisé :

a) **homogénéisateur rotatif**, fonctionnant à une fréquence de rotation comprise entre 8 000 et 45 000 min⁻¹, avec des récipients en verre ou en métal, munis de préférence de couvercles et résistant aux conditions de stérilisation;

b) **homogénéisateur de type péristaltique**, avec des sacs en plastique stériles.

NOTE — Les récipients ou les sacs en plastique doivent être de capacité suffisante pour permettre le mélange correct de l'échantillon pour essai avec le diluant. En général, le volume du récipient doit être égal à environ deux fois le volume de l'échantillon et du diluant.

1) Se conformer aux instructions du fabricant.