

NORME
INTERNATIONALE

ISO
6785

FIL
93

Deuxième édition
2001-05-15

**Lait et produits laitiers — Recherche de
Salmonella spp.**

Milk and milk products — Detection of Salmonella spp.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6785:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>



Numéros de référence
ISO 6785:2001(F)
FIL 93:2001(F)

© ISO et FIL 2001

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 et la FIL déclinent 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 et les comités nationaux de la FIL. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central de l'ISO à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6785:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

© ISO et FIL 2001

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 soit de l'ISO soit de la FIL, à l'une ou l'autre des adresses ci-après.

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

Fédération Internationale de Laiterie
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Bruxelles
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Version française parue en 2007

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Avant-propos.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
4.1 Généralités	1
4.2 Pré-enrichissement dans un milieu liquide non sélectif	1
4.3 Enrichissement dans des milieux liquides sélectifs	2
4.4 Étalement sur gélose et caractérisation	2
4.5 Confirmation	2
5 Milieux de culture, réactifs et sérums	2
5.1 Eau	2
5.2 Milieux de culture	3
5.3 Réactifs	10
5.4 Sérums	13
6 Appareillage et verrerie	13
7 Échantillonnage	14
8 Préparation de l'échantillon pour essai	14
9 Mode opératoire	14
9.1 Mesures de sécurité	14
9.2 Prise d'essai et pré-enrichissement	14
9.3 Enrichissement	15
9.4 Étalement sur gélose et caractérisation	15
9.5 Confirmation	16
10 Cultures de contrôle	19
11 Expression des résultats	20
12 Mesures de sécurité	20
13 Rapport d'essai	20
Annexe A (normative) Schéma du mode opératoire	21
Annexe B (normative) Spécification pour le vert brillant	22
Annexe C (informative) Méthode normalisée d'étalement sur gélose	23
Bibliographie	24

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.

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'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document 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.

L'ISO 6785|FIL 93 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

[ISO 6785:2001](https://standards.iso.org/iso/6785-2001)

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 6785:1985), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les Annexes A et B constituent la partie normative de la présente Norme internationale. L'Annexe C est fournie à titre informatif uniquement.

Avant-propos

La **FIL (Fédération internationale de laiterie)** est une fédération mondiale du secteur laitier avec un Comité National dans chacun de ses pays membres. Chaque Comité National a le droit de faire partie des Comités permanents de la FIL, auxquels sont confiés les travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO et avec l'AOAC International pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage pour le lait et les produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les Équipes d'Action et les Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 50 % au moins des Comités Nationaux votants.

La Norme internationale ISO 6785|FIL 93 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL), en collaboration avec l'AOAC International. Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL, et séparément par l'AOAC International.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte d'*Harmonisation* du Comité permanent chargé des *Méthodes microbiologiques d'analyse*, sous la conduite de son chef de projet, Monsieur H. Becker (DE).

Cette quatrième édition annule et remplace la troisième édition (FIL 93:1995).

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6785:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6785:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

Lait et produits laitiers — Recherche de *Salmonella* spp.

1 Domaine d'application

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

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 Norme internationale. 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 Norme internationale 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 8261|FIL 122, *Lait et produits laitiers — Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

[ISO 6785:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

3 Termes et définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

Salmonella

micro-organismes qui forment des colonies typiques sur des milieux solides sélectifs et qui possèdent les caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque les essais sont exécutés suivant 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 les essais sont exécutés selon la présente Norme internationale

4 Principe

4.1 Généralités

La recherche des *Salmonella* nécessite quatre phases successives (voir Annexe A).

4.2 Pré-enrichissement dans un milieu liquide non sélectif

Ensemencement de la prise d'essai dans le milieu de pré-enrichissement, puis incubation à 37 °C pendant 16 h à 20 h.

4.3 Enrichissement dans des milieux liquides sélectifs

Ensemencement du milieu de Rappaport-Vassiliadis modifié au chlorure de magnésium/vert malachite et du milieu sélénite/cystine avec la culture obtenue en 4.2.

Incubation du milieu de Rappaport-Vassiliadis modifié au chlorure de magnésium/vert malachite dans un bain d'eau ou un incubateur (6.4) à 41,5 °C pendant deux périodes successives de 24 h.

Incubation du milieu sélénite/cystine à l'étuve (6.3) à 37 °C pendant deux périodes successives de 24 h.

4.4 Étalement sur gélose et caractérisation

À partir des cultures obtenues (4.3), ensemencement de deux milieux solides sélectifs (gélose au vert brillant et au rouge de phénol et un autre milieu solide sélectif convenable).

NOTE Des milieux convenables permettent de détecter les souches de *Salmonella* fermentant le lactose.

Incubation du milieu au vert brillant et au rouge de phénol à l'étuve (6.3) à 37 °C et examen après 20 h à 24 h et, si nécessaire, après 40 h à 48 h pour contrôler la présence de colonies qui, d'après leurs caractéristiques, pourraient être des *Salmonella*.

Incubation du second milieu solide sélectif à température appropriée et examen après une durée appropriée pour contrôler la présence de colonies qui, d'après leurs caractéristiques, pourraient être des *Salmonella*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4.5 Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *Salmonella* (4.4) et confirmation au moyen de tests biochimiques et sérologiques appropriés.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

5 Milieux de culture, réactifs et sérums

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. Dans ce cas, suivre scrupuleusement les prescriptions du fabricant.

N'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue, sauf indication contraire.

Les valeurs de pH indiquées se réfèrent à une température de 25 °C. Les ajustements éventuels sont faits par addition soit d'une solution d'acide chlorhydrique [$c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$], soit d'une solution d'hydroxyde de sodium [$c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$].

Si les milieux de culture préparés et les réactifs ne sont pas utilisés extemporanément, les conserver, sauf spécifications contraires, à l'obscurité, à une température comprise entre 0 °C et +5 °C, pendant un mois au maximum, dans des conditions qui évitent toute modification de leur composition.

5.1 Eau

Utiliser de l'eau utilisée, déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente. Elle doit être exempte de substances pouvant inhiber le développement de micro-organismes dans les conditions d'essai spécifiées dans la présente Norme internationale.

5.2 Milieux de culture

5.2.1 Milieu de pré-enrichissement: eau peptonée tamponnée

5.2.1.1 Composition

Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique (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

5.2.1.2 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant. Ajuster le pH de sorte qu'il soit, après stérilisation, de 7,0 ± 0,1.

Répartir le milieu par quantités de 225 ml dans des flacons (6.8) de 500 ml de capacité (ou par quantités multiples de 225 ml dans des flacons de capacité convenable). Stériliser à l'autoclave (6.1) réglé à 121 °C pendant 15 min. Laisser refroidir à température ambiante.

5.2.2 Premier milieu sélectif d'enrichissement: milieu de Rappaport-Vassiliadis modifié au chlorure de magnésium/vert malachite (bouillon RVS)

5.2.2.1 Solution A

[ISO 6785:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001)

5.2.2.1.1 Composition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

Digestat enzymatique de soja	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	8,0 g
Dihydrogène-orthophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)	1,4 g
Hydrogène-phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	0,2 g
Eau	1 000 ml

5.2.2.1.2 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant à environ 70 °C. Préparer la solution A le jour de la préparation du milieu RVS.

5.2.2.2 Solution B

5.2.2.2.1 Composition

Chlorure de magnésium hexahydraté (MgCl ₂ ·6H ₂ O)	400,0 g
Eau	1 000 ml

5.2.2.2.2 Préparation

Dissoudre le chlorure de magnésium dans l'eau. Du fait que le sel est très hygroscopique, il est conseillé de dissoudre le contenu entier d'un flacon fraîchement ouvert de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. Par exemple, 250 g de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ sont ajoutés à 625 ml d'eau, donnant une solution d'un volume total de 795 ml et une concentration d'environ 0,3 g/ml de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

La solution B peut être conservée dans un flacon en verre brun étanche à l'air à température ambiante pendant au moins 2 ans.

5.2.2.3 Solution C

5.2.2.3.1 Composition

Oxalate de vert malachite	0,4 g
Eau	100 ml

5.2.2.3.2 Préparation

Dissoudre l'oxalate de vert malachite dans l'eau.

La solution C peut être conservée dans un flacon en verre brun à température ambiante pendant au moins 8 mois.

5.2.2.4 Milieu complet

5.2.2.4.1 Composition

Solution A (5.2.2.1)	1 000 ml
Solution B (5.2.2.2)	100 ml
Solution C (5.2.2.3)	10 ml

5.2.2.4.2 Préparation

Ajouter à 1 000 ml de solution A, 100 ml de solution B et 10 ml de solution C. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'il soit, après stérilisation, de $5,2 \pm 0,1$. Répartir avant utilisation dans des tubes de culture (6.9) par quantités de 10 ml ou dans des flacons stériles (6.8) de capacité convenable pour obtenir les quantités nécessaires. Stériliser à l'autoclave (6.1) réglé à 115 °C pendant 15 min.

Conserver le milieu préparé au réfrigérateur à $3 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.

5.2.3 Second milieu sélectif d'enrichissement: milieu 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. Il ne faut en aucun cas pipetter à la bouche.

5.2.3.1 Milieu de base

5.2.3.1.1 Composition

Tryptone	5,0 g
Lactose	4,0 g
Hydrogène-orthophosphate disodique (Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O)	10,0 g
Hydrogénosélénite de sodium	4,0 g
Eau	1 000 ml

5.2.3.1.2 Préparation

Dissoudre les trois premiers ingrédients dans l'eau en portant à ébullition pendant 5 min. Après refroidissement, ajouter l'hydrogénosélénite de sodium. Ajuster le pH, si nécessaire, à 7,0 ± 0,1. Ne pas stériliser.

5.2.3.2 Solution de L-cystine

5.2.3.2.1 Composition

L-Cystine	0,1 g
Solution d'hydroxyde de sodium, c(NaOH) = 1 mol/l	15 ml
Eau stérile	environ 85 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)

5.2.3.2.2 Préparation

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

Dissoudre les composants dans un flacon jaugé stérile. Compléter à 100 ml avec de l'eau stérile. Ne pas stériliser.

5.2.3.3 Milieu complet

5.2.3.3.1 Composition

Milieu de base (5.2.3.1)	1 000 ml
Solution de L-cystine (5.2.3.2)	10 ml

5.2.3.3.2 Préparation

Ajouter aseptiquement la solution L-cystine au milieu de base. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7,0 ± 0,1. Répartir aseptiquement le milieu dans des flacons stériles de capacité convenable pour obtenir les quantités nécessaires à l'essai.

Le milieu peut être utilisé jusqu'à apparition d'un précipité rouge.

5.2.4 Premier milieu solide sélectif: gélose au vert brillant et au rouge de phénol (Edel et Kampelmacher)

5.2.4.1 Milieu de base

5.2.4.1.1 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	de 12 g à 18 g ^a
Eau	900 ml

^a Selon les propriétés gélifiantes de l'agar-agar.

5.2.4.1.2 Préparation

Dissoudre dans l'eau les composants ou le milieu de base complet déshydraté, en chauffant si nécessaire. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'il soit, après stérilisation, de $7,0 \pm 0,1$. Répartir le milieu de base dans des tubes (6.9) ou des flacons (6.8) de capacité appropriée. Stériliser à l'autoclave (6.1) réglé à 121 °C pendant 15 min.

5.2.4.2 Solution de sucres au rouge de phénol ISO 6785:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9a3fb2ae-2797-454f-b19d-cff4e94d49d5/iso-6785-2001>

5.2.4.2.1 Composition

Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Rouge de phénol	0,09 g
Eau	environ 80 ml

5.2.4.2.2 Préparation

Dissoudre les composants dans approximativement 50 ml d'eau, dans un flacon jaugé. Compléter à 100 ml avec de l'eau. Chauffer la solution au bain d'eau (6.5) à 70 °C pendant 20 min. Refroidir dans un autre bain d'eau (6.5) à 55 °C. Utiliser la solution immédiatement après le refroidissement.

5.2.4.3 Solution de vert brillant

5.2.4.3.1 Composition

Vert brillant (voir la spécification dans l'Annexe B)	environ 0,5 g
Eau	100 ml

5.2.4.3.2 Préparation

Dissoudre le vert brillant dans l'eau. Conserver la solution au moins une journée dans l'obscurité pour permettre l'autostérilisation.