
**Microbiologie des aliments —
Préparation des échantillons, de la
suspension mère et des dilutions
décimales en vue de l'examen
microbiologique —**

**Partie 2:
Règles spécifiques pour la préparation
des viandes et produits à base de viande**

[ISO 6887-2:2003](https://standards.iteh.ai/standards/iso/6887-2/2003)

<https://standards.iteh.ai/standards/iso/6887-2/2003> *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination —*

Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products



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 décline 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. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6887-2:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003>

© ISO 2003

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 de l'ISO à l'adresse ci-après ou du 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

Publié en Suisse

Sommaire

Page

| | |
|--|----|
| Avant-propos | iv |
| 1 Domaine d'application | 1 |
| 2 Références normatives | 2 |
| 3 Termes et définitions | 2 |
| 4 Principe | 3 |
| 5 Diluants | 3 |
| 5.1 Composants de base | 3 |
| 5.2 Diluants d'emploi général | 3 |
| 5.3 Diluants pour des besoins particuliers | 4 |
| 5.4 Répartition et stérilisation du diluant | 4 |
| 6 Appareillage | 4 |
| 7 Préparation des échantillons | 5 |
| 7.1 Produits congelés | 5 |
| 7.2 Produits durs et secs | 5 |
| 7.3 Produits liquides et non visqueux | 5 |
| 7.4 Produits hétérogènes | 5 |
| 8 Modes opératoires généraux | 5 |
| 8.1 Généralités | 5 |
| 8.2 Types d'échantillons à envoyer au laboratoire | 6 |
| 8.3 Objet de l'analyse | 6 |
| 8.4 Cas général des produits acides | 6 |
| 8.5 Aliments à haute teneur en matière grasse (plus de 20 % de matière grasse sur la masse totale) | 7 |
| 9 Modes opératoires spécifiques | 7 |
| 9.1 Préparation initiale des différents types d'échantillons | 7 |
| 9.2 Mode opératoire pour les produits manufacturés stockés réfrigérés | 8 |
| 9.3 Mode opératoire pour les viandes congelées | 10 |
| 9.4 Mode opératoire pour les extraits de viande partiellement déshydratés | 11 |
| 9.5 Prélèvements de surface (écouvillons et petits chiffons) | 12 |
| 10 Dilutions décimales suivantes | 12 |
| Annexe A (informative) Cadre de délimitation d'une zone de prélèvement superficiel | 13 |
| Annexe B (normative) Modalités du prélèvement sur une pièce ou un pain d'essai congelé(e)s ou surgelé(e)s | 14 |
| B.1 Cas d'un pain non homogène | 14 |
| B.2 Cas d'une pièce d'essai homogène | 14 |
| Bibliographie | 16 |

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'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 6887-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

L'ISO 6887 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*:

- *Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*
- *Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande*
- *Partie 3: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche*
- *Partie 4: Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche*

Cette première édition de l'ISO 6887-2 annule et remplace l'ISO 3100-2:1988, *Viandes et produits à base de viande — Échantillonnage et préparation des échantillons pour essai — Partie 2: Préparation des échantillons pour essai en vue de l'examen microbiologique*.

Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique —

Partie 2:

Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande

ATTENTION — L'usage de la présente norme peut impliquer l'emploi de matériels, équipements ou manipulations dangereux. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de la présente norme d'établir les pratiques de sécurité et règles sanitaires et de déterminer l'application prioritaire de limites réglementaires avant usage de la norme.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6887 spécifie des règles pour la préparation des échantillons de viandes et produits à base de viande et leur mise en suspension en vue de l'examen microbiologique, lorsque ces échantillons nécessitent une préparation différente de la méthode décrite dans l'ISO 6887-1. L'ISO 6887-1 définit des règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

La présente partie de l'ISO 6887 décrit uniquement les méthodes de préparation applicables à plusieurs micro-organismes simultanément. Elle exclut les préparations ne s'appliquant qu'à la recherche et/ou au dénombrement d'un seul micro-organisme pour lequel la méthode de préparation est décrite dans la norme appropriée correspondante à ce micro-organisme.

La présente partie de l'ISO 6887 est applicable aux viandes fraîches, crues et transformées et aux volailles et leurs produits suivants:

- réfrigérés ou congelés;
- salés ou fermentés;
- hachés ou hachés menu;
- aux produits de charcuterie;
- aux plats cuisinés à base de viande ou aux plats à base de volaille;
- aux viandes séchées et fumées à divers degrés de déshydratation;
- aux extraits de viande concentrés.

La présente partie de l'ISO 6887 n'est pas applicable aux produits suivants dont l'examen microbiologique est décrit dans d'autres Normes internationales:

- conserves;
- autres produits (voir l'ISO 6887-4).

NOTE 1 Le lait et les produits laitiers font l'objet de l'ISO 8261.

NOTE 2 La viande d'animaux sauvages (de gibier chassé ou de gibier d'élevage) peut être analysée en suivant les techniques applicables décrites ici pour des produits similaires.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour 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 6887-1:1999, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

ISO 17604, *Microbiologie des aliments — Prélèvements d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique*¹⁾

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1 échantillon pour laboratoire

échantillon dans l'état de préparation où il est envoyé au laboratoire et destiné à être utilisé pour un contrôle ou pour des essais

[ISO 7002]

3.2 prise d'essai

échantillon représentatif mesuré (volume ou masse) prélevé sur l'échantillon pour laboratoire pour servir à la préparation de la suspension mère

3.3 suspension mère première dilution

suspension, solution ou émulsion obtenues après qu'une quantité pesée ou mesurée du produit à analyser (ou de l'échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) a été mélangée avec une quantité de diluant égale le plus souvent à neuf fois cette quantité de produit, en laissant se déposer les particules grossières, s'il y en a

NOTE Dans le cas de prélèvements de surface, il convient d'indiquer la dilution initiale. Par exemple, à partir d'un échantillon (écouvillonnage ou autre) de 25 cm² de surface, dilué dans un volume total de 25 ml de diluant, 1 ml de cette suspension mère représente 1 cm².

3.4 dilutions décimales suivantes

suspensions ou solutions obtenues en mélangeant un volume mesuré de la suspension mère (3.3) avec un volume de diluant égal à neuf fois le volume prélevé de la suspension mère et en répétant cette opération sur

1) Révision de l'ISO 3100-1:1991.

chaque dilution préparée de la sorte, jusqu'à obtention d'une gamme de dilutions décimales, appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture

3.5

pièce

pain

échantillon dont la constitution et les dimensions (surface et épaisseur, mais plus particulièrement épaisseur) permettent de prélever en profondeur un échantillon dans des conditions aseptiques satisfaisantes

3.6

fragment

copeau

échantillon de viande congelée résultant d'une découpe poussée d'un prélèvement de surface ou d'un prélèvement effectué soit au cœur de la pièce d'essai, soit à la perceuse électrique ou au vilebrequin équipé d'une mèche à bois

3.7

tranche

découpe de viande dont les deux faces sont à peu près parallèles de quelques centimètres d'épaisseur

3.8

carcasses

pièces de découpe

(produits dérivés de volaille, viande de lapin) unités telles que préparées en vue de la vente

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

4 Principe

Préparation de la suspension mère (3.3), de façon à obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans l'échantillon pour essai.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9a0615501206/iso-6887-2-2003>

Préparation d'une suspension de pré-enrichissement ou d'enrichissement de la même façon, avec utilisation du milieu préconisé par la méthode d'analyse concernée, sauf cas particuliers mentionnés dans chaque chapitre relatif à un produit de la présente partie de l'ISO 6887.

Préparation, si nécessaire, de dilutions décimales (3.4) en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des milieux liquides) ou d'observer les colonies (cas des boîtes de gélose), comme précisé dans chaque norme spécifique.

Pour restreindre, si nécessaire, le domaine de dénombrement à un intervalle donné, ou si des nombres élevés de micro-organismes sont attendus, il est possible d'ensemencer uniquement les dilutions décimales nécessaires (au moins deux dilutions successives) pour pouvoir effectuer le dénombrement selon le mode de calcul décrit dans l'ISO 7218.

5 Diluants

5.1 Composants de base

Voir l'ISO 6887-1.

5.2 Diluants d'emploi général

5.2.1 Solution de peptone-sel

Voir l'ISO 6887-1:1999, 5.2.1.

5.2.2 Eau peptonée tamponnée

Voir l'ISO 6887-1:1999, 5.2.2.

5.3 Diluants pour des besoins particuliers

5.3.1 Solution de peptone-sel avec pourpre de bromocrésol

5.3.1.1 Composition

| | |
|--|----------|
| Solution de peptone-sel (voir 5.2.1) | 1 000 ml |
| Pourpre de bromocrésol (solution alcoolisée à 0,04 %, par exemple solution dans l'éthanol) | 0,1 ml |

5.3.1.2 Préparation

Diluer 0,1 ml de pourpre de bromocrésol dans 1 000 ml de solution de peptone-sel (5.2.1).

5.3.1.3 Utilisation

Cette solution peut être utilisée pour l'analyse de certains produits acides, ce qui permet d'ajuster le pH sans utiliser de sonde de pH stérile (voir 8.4).

Le pourpre de bromocrésol est jaune à un pH acide et vire au pourpre à un pH au-dessus de 6,8.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.4 Répartition et stérilisation du diluant

ISO 6887-2:2003

Voir l'ISO 6887-1:1999, 5.4. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003>

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire de microbiologie pour usage général (voir l'ISO 6887-1 et l'ISO 7218) et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Plateau stérile, de dimensions appropriées.

6.2 Ciseaux, pinces, scalpels droits ou couteaux, et spatules stériles.

6.3 Hachoir à viande mécanique, de taille appropriée au laboratoire, stérilisable, muni d'une plaque perforée, dont les trous ont un diamètre maximal de 4 mm.

6.4 Équipement de cautérisation en surface des viandes (par exemple lampe à souder à gaz portative).

6.5 Gabarit pour échantillonnage de surface, cadre métallique de dimensions appropriées permettant la délimitation de la surface à prélever, stérilisé par immersion dans l'alcool et flambage.

L'Annexe A montre un exemple de cadre. D'autres outils satisfaisant aux exigences du présent paragraphe peuvent également être utilisés. Certains spores peuvent survivre à la stérilisation à la flamme. Dans le cas particulier des bactéries sporulées, il est recommandé d'utiliser un cadre métallique stérile (après stérilisation au four).

6.6 Équipement permettant de recueillir un échantillon pour laboratoire congelé

6.6.1 Perceuse électrique à vitesse variable, de vitesse d'utilisation maximale de 900 tr/min, ou vilebrequin.

- 6.6.2 **Mèche à bois stérile pour perceuse électrique**, de 14 mm ou 16 mm de diamètre.
- 6.6.3 **Ciseaux à bois stériles**, de 20 mm de largeur.
- 6.6.4 **Marteau ou maillet en plastique**.
- 6.6.5 **Tout autre appareil** n'entraînant ni échauffement ni contamination de l'échantillon.

7 Préparation des échantillons

7.1 Produits congelés

Il convient de ramener les produits stockés congelés à une consistance permettant l'échantillonnage: c'est-à-dire en les stockant entre 18 °C et 27 °C (température du laboratoire) pendant 3 h au maximum, ou à 2 °C ± 2 °C pendant 24 h au maximum. Il convient de soumettre les échantillons à l'essai dès que possible. Voir l'ISO 6887-1:1999, 9.3.

Si le produit est encore congelé au moment du découpage, du diluant à température ambiante peut être ajouté, pour faciliter la décongélation.

7.2 Produits durs et secs

Pour les produits durs ou secs, ne pas homogénéiser dans un homogénéisateur rotatif plus de 2,5 min d'affilée.

Pour les produits secs et durs ou hétérogènes, il peut être nécessaire de hacher l'échantillon pour laboratoire. Dans ce cas, pour éviter un échauffement excessif, l'opération de hachage ne doit pas durer plus de 1 min.

7.3 Produits liquides et non visqueux

Avant l'analyse, il convient de prélever l'échantillon pour essai après avoir agité manuellement l'échantillon pour laboratoire (par exemple 25 fois selon un arc de 25 cm; voir l'ISO 8261) ou par des moyens mécaniques de manière à s'assurer que les micro-organismes sont uniformément répartis.

7.4 Produits hétérogènes

Pour les produits hétérogènes (qui contiennent des morceaux de différents aliments), il convient de prélever des parties aliquotes de chaque composant en fonction de leurs proportions dans le produit initial.

Il est également possible d'homogénéiser l'ensemble de l'échantillon pour laboratoire, pour permettre de prélever un échantillon pour essai homogénéisé.

Il peut être nécessaire de hacher l'échantillon pour laboratoire. Dans ce cas, pour éviter un échauffement excessif, l'opération de hachage ne doit pas durer plus de 1 min.

8 Modes opératoires généraux

8.1 Généralités

Il convient que toutes les préparations et manipulations soient effectuées selon des techniques aseptiques appropriées et avec un équipement stérile pour empêcher toute contamination microbienne des échantillons par des sources extérieures. Voir l'ISO 7218.

Indiquer dans le rapport d'essai le mode opératoire utilisé pour l'analyse, s'il est différent de celui décrit dans la présente partie de l'ISO 6887.

8.2 Types d'échantillons à envoyer au laboratoire

La viande et les produits à base de viande sont de types suivants:

- unités de viande ou produits à base de viande, préparés ou transformés, de dimensions diverses;
- morceaux de viande prélevés parmi des unités d'une masse inférieure à 2 kg;
- morceaux d'échantillons de viande prélevés sur des carcasses ou pièces de viande, d'une masse supérieure à 2 kg.

Dans le cas de prélèvement par méthodes non destructives (ISO 17604), il convient que les éponges et écouvillons (ou autres, voir l'ISO 17604) soient envoyés au laboratoire.

L'état physique des échantillons reçus peut varier en fonction des facteurs suivants:

- a) la température, pour des produits qui sont
 - réfrigérés, ou
 - congelés ou surgelés;
- b) l'activité de l'eau (a_w), pour des produits
 - en l'état, ou
 - partiellement déshydratés, dont la réduction de la teneur en eau inhibe la multiplication microbienne (a_w réduit).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8.3 Objet de l'analyse

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003>

Voir l'ISO 7218.

L'analyse microbiologique peut avoir pour objet la recherche et/ou le dénombrement de

- la flore microbienne profonde,
- la flore microbienne superficielle, ou
- la flore microbienne superficielle et profonde (dite globale).

La préparation de l'échantillon pour essai doit tenir compte du but de l'analyse et de la nature de l'échantillon.

8.4 Cas général des produits acides

Il est important de s'assurer, lors de la mise en solution des produits acides, que le pH soit ramené à la neutralité. L'utilisation de diluant additionné d'un indicateur de pH (5.3.1) peut permettre d'éviter d'avoir à utiliser et à stériliser des sondes de pH: ajouter de l'hydroxyde de sodium (NaOH) pour rétablir la coloration de la suspension jusqu'à ce qu'un virage de l'indicateur soit observé.

En cas d'utilisation de diluants tamponnés, l'addition de NaOH est souvent nécessaire pour augmenter l'effet tampon du composant alcalin. La concentration de la soude ajoutée dépend de l'acidité du produit. La concentration la plus adaptée est celle qui permet de s'écarter le moins possible du rapport 1 pour 9 de diluant (par exemple 0,1 mol/l ou 1 mol/l).

8.5 Aliments à haute teneur en matière grasse (plus de 20 % de matière grasse sur la masse totale)

L'emploi de diluant additionné de 1 g/l à 10 g/l de monooléate de sorbitol (Tween 80), correspondant environ au taux de matières grasses (par exemple ajout de 4 g/l pour une teneur en matières grasses de 40 %), peut améliorer l'émulsification lors de la mise en suspension.

9 Modes opératoires spécifiques

9.1 Préparation initiale des différents types d'échantillons

9.1.1 Échantillon pour laboratoire d'une masse égale ou inférieure à 50 g

Si la masse de l'échantillon est inférieure ou égale à 50 g, utiliser directement l'échantillon pour laboratoire pour la préparation de la suspension mère.

NOTE Seuls la détection ou le dénombrement de la flore microbienne superficielle et profonde sont possibles.

9.1.2 Pièce ou carcasse d'essai

Prélever un échantillon en profondeur et/ou en surface.

Pour une analyse de surface, une technique non destructrice peut être utilisée (écouvillonnage ou utilisation d'un petit chiffon). Voir l'ISO 17604.

9.1.3 Tranche ou portion individuelle de viande ou de charcuterie

Prélever une languette dans le milieu. [ISO 6887-2:2003
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e3a3170f-732b-4c5c-85fe-9cceb4a33613/iso-6887-2-2003)

9.1.4 Fragments ou copeaux de produits congelés

Homogénéiser soigneusement.

9.1.5 Charcuterie sous boyau

Dans le cas de boyau non comestible (synthétique), désinfecter les saucisses cuites ou crues à peau synthétique (plastique), perméable ou non, au point d'incision; enlever la peau par arrachage avec des pinces stériles.

Découper les tranches.

Ne pas enlever la peau des saucisses crues maturées.

9.1.6 Plats cuisinés

Dans le cas de plats cuisinés conditionnés, ouvrir l'emballage conformément à 9.2.

Prélever des parties aliquotes de chaque composant en tenant compte de leurs proportions.

Il est possible d'homogénéiser la totalité de l'échantillon pour laboratoire afin d'obtenir un échantillon pour essai homogène.