

---

---

**Pâte, papier et carton — Analyse  
microbienne —**

Partie 1:  
**Dénombrement total des bactéries,  
levures et moisissures basé sur la  
désintégration**

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

*Pulp, paper and board — Microbiological examination —*

*Part 1: Total count of bacteria, yeast and mould based on disintegration*

ISO 8784-1:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>



**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 8784-1:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

© ISO 2005

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	1
4 <b>Principe</b> .....	1
5 <b>Substrats et diluants</b> .....	2
5.1 <b>Substrat nutritif</b> .....	2
6 <b>Matériel</b> .....	2
7 <b>Échantillonnage</b> .....	3
8 <b>Préparation du matériau d'essai</b> .....	3
8.1 <b>Détermination de la teneur en matière sèche</b> .....	3
8.2 <b>Pesée</b> .....	4
9 <b>Mode opératoire</b> .....	4
9.1 <b>Conditions</b> .....	4
9.2 <b>Désintégration</b> .....	4
9.3 <b>Ensemencement</b> .....	4
9.4 <b>Incubation</b> .....	5
10 <b>Dénombrement des colonies</b> .....	5
11 <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	5
11.1 <b>Calcul</b> .....	5
11.2 <b>Absence de colonies</b> .....	6
11.3 <b>Rapport</b> .....	6
12 <b>Exactitude</b> .....	6
13 <b>Rapport d'essai</b> .....	6
<b>Annexe A (informative) Liquide de dilution</b> .....	7
<b>Annexe B (informative) Modèle de dilution</b> .....	8
<b>Bibliographie</b> .....	9

## 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 8784-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 6, *Papiers, cartons et pâtes*, sous-comité SC 2, *Méthodes d'essais et spécifications de qualité des papiers et cartons*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 8784-1:1987), qui a fait l'objet d'une révision technique. La première édition n'était applicable qu'aux papiers et cartons et ne permettait de déterminer que les colonies bactériennes. La seconde édition est également applicable aux pâtes (pâtes marchandes sèches) et détermine les levures et les moisissures en plus des bactéries. Les conditions d'incubation ont également été changées dans cette seconde édition (37 °C, 48 h pour les bactéries, 30 °C, 5 jours pour les levures et les moisissures) par rapport à la première édition (30 °C, 72 h).

L'ISO 8784 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Pâte, papier et carton — Analyse microbienne*:

- *Partie 1: Dénombrement total des bactéries, levures et moisissures basé sur la désintégration*
- *Partie 2: Méthode extérieure pour l'énumération des microbes sur le papier cartonné*

## Introduction

La présente partie de l'ISO 8784, qui traite de l'examen microbiologique de la pâte marchande sèche, du papier et du carton, est fondée dans ses grandes lignes sur l'ISO 4833 [2] bien que les conditions soient différentes; elle fournit cependant des précisions particulières lorsque cela s'avère nécessaire. Elle est destinée à l'estimation du nombre d'unités formant colonies (UFC), sans chercher à isoler des souches ayant une importance particulière pour la santé publique.

Compte tenu de la précision des techniques exigées dans toute procédure aseptique, des résultats reproductibles ne peuvent être garantis que par un personnel de laboratoire de microbiologie qualifié. De plus, des risques pour la santé sont possibles si l'on fait appel à un personnel non qualifié.

## iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 8784-1:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 8784-1:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

# Pâte, papier et carton — Analyse microbienne —

## Partie 1:

# Dénombrement total des bactéries, levures et moisissures basé sur la désintégration

## 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 8784 spécifie une méthode de détermination de la population microbienne des pâtes marchandes sèches, des papiers et des cartons. Le dénombrement utilise des milieux spécifiques.

La présente partie de l'ISO 8784 s'applique à la plupart des papiers et des cartons, en particulier à ceux de qualités destinées à entrer en contact avec des denrées alimentaires.

## 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).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1201c4015d/iso-287-1-2005>  
ISO 287, *Papier et carton — Détermination de l'humidité — Méthode par séchage à l'étuve*

ISO 638, *Pâtes — Détermination de la teneur en matières sèches*

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, le terme et la définition suivante s'applique.

### 3.1

#### dénombrement microbien

nombre d'unités formant colonies (UFC) qui se sont formées dans un milieu de culture étalon après incubation dans les conditions fixées

## 4 Principe

Préparation de boîtes de culture à partir des dilutions indiquées d'une suspension de l'échantillon dans un milieu de culture spécifié. Incubation aérobie des boîtes de culture pendant 48 h à 37 °C pour la détermination des bactéries. Incubation aérobie pendant 5 jours à 30 °C pour la détermination des levures et des moisissures. Calcul du nombre d'unités formant colonies (UFC) sur les boîtes au terme de la phase d'incubation.

À partir du nombre de colonies comptées, calcul du nombre d'UFC par gramme d'échantillon.

## 5 Substrats et diluants

Tous les substrats et les diluants doivent être stérilisés de façon adéquate. Au moment de la préparation du milieu de culture, s'assurer de la complète dissolution de tous les ingrédients avant introduction dans des flacons appropriés et avant stérilisation.

### 5.1 Substrat nutritif

#### 5.1.1 Extrait de tryptone-glucose-agar (TGEA)

Utiliser le TGEA pour le dénombrement des bactéries. Composition par litre:

Extrait de bœuf	3,0 g
Tryptone	5,0 g
Dextrose (D-glucose)	1,0 g
Agar	15,0 g
pH du milieu prêt à l'emploi	7,0

En cas d'indisponibilité du TGEA, il est possible de le remplacer par de la gélose PCA (Plate Count Agar). L'utilisation de gélose PCA doit être notée dans le rapport d'essai. La composition du milieu PCA est identique à celle du TGEA à l'exception de l'extrait de bœuf (3 g) remplacé par 2,5 g d'extrait de levures.

#### 5.1.2 Gélose dextrosée à l'extrait de pomme de terre (PDA)

Utiliser la PDA pour le dénombrement des levures et des moisissures. Composition par litre:

Pommes de terre (infusion de)	200 g
Dextrose	20 g
Agar	15 g
pH du milieu prêt à l'emploi	5,6

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
ISO 8784-1:2005  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

Acidification de la PDA: Acidifier le milieu avec des gouttes d'acide tartrique stérile à 10 % afin d'atteindre un pH de  $3,5 \pm 0,1$ . Après avoir ajouté l'acide tartrique au milieu, mélanger sans faire mousser et préparer les boîtes destinées à recevoir le mélange en suivant la procédure habituelle. Ne pas faire chauffer le milieu après l'ajout d'acide car le chauffage en milieu acide entraîne une hydrolyse de l'agar et détruit ainsi ses propriétés de solidification.

Il est souvent souhaitable dans le calcul de levures et de moisissures, d'empêcher le développement de bactéries par l'acidification du milieu PDA et il est recommandé de réduire la réaction du milieu à un pH ( $3,5 \pm 0,1$ ) après la stérilisation. Le développement de bactéries peut également être freiné par l'ajout d'un bactéricide. L'utilisation d'un bactéricide doit être notée dans le rapport d'essai.

NOTE L'extrait de tryptone-glucose-agar (TGEA) et la gélose dextrosée à l'extrait de pomme de terre (PDA) existent dans le commerce sous forme déshydratée. Lors de l'utilisation du milieu déshydraté, suivre les instructions inscrites sur le flacon.

**5.2 Diluant étalon:** Il est préférable d'utiliser la solution de Ringer (voir A.1) mais toute autre solution isotonique peut être employée. Des comprimés de solution de Ringer existent dans le commerce.

Pour faciliter la libération des cellules par les fibres, il est recommandé d'ajouter 20 µl de Tween 80 (voir A.2) par litre à la solution de Ringer avant stérilisation.

## 6 Matériel

Tout matériel en contact direct avec l'échantillon ou les diluants doit être stérilisé. Utiliser le matériel courant de laboratoire de microbiologie et les éléments suivants:



**6.1 Appareil de comptage des colonies**, équipé d'une loupe ayant un grossissement d'au moins 1,5 fois. L'utilisation d'une loupe supplémentaire conjointement avec la loupe figurant sur l'appareil de comptage peut être nécessaire pour augmenter le grossissement de huit à dix fois, afin de faciliter un comptage par points du nombre d'unités formant colonies bactériennes.

**6.2 Désintégrateurs**, avec une cuve en métal ou en verre d'une capacité d'environ 500 ml, munis vers le fond d'une hélice tournant à grande vitesse et disposant d'un couvercle ou d'un bouchon; ou tout désintégrateur adapté garantissant la désintégration de l'échantillon. Mettre un capuchon en feuille d'aluminium sur le bouchon de chaque désintégrateur avant la stérilisation.

**6.3 Incubateur**, capable de maintenir des températures de  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$  et  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

**6.4 Boîtes de Petri**, d'un diamètre de 150 mm.

**6.5 Pipettes**, avec large orifice adapté.

**6.6 Feuilles d'aluminium, enveloppes ou sacs plastiques auto-adhésifs** pour l'échantillonnage. Les échantillons peuvent être emballés tels quels dans des feuilles d'aluminium, dans des enveloppes stériles de tailles différentes prêtes à l'emploi ou dans des sacs plastiques auto-adhésifs, tous disponibles dans le commerce.

NOTE Des boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm peuvent être utilisées. Un diamètre de 150 mm est cependant recommandé pour séparer plus facilement les colonies du matériau.

## 7 Échantillonnage

S'assurer que la procédure d'échantillonnage se déroule dans des conditions d'asepsie.

Pour qu'un échantillon soit représentatif d'un lot de papier ou de carton, il est recommandé de procéder à l'échantillonnage selon l'ISO 186. Pour qu'un échantillon soit représentatif d'un lot de pâte, il est recommandé de procéder à l'échantillonnage selon l'ISO 7213. Pour chaque unité de pâte sèche devant être échantillonnée, retirer plusieurs des feuilles se trouvant sur le dessus de chaque balle afin d'éliminer la contamination en surface. Pour chaque unité de papier ou de carton devant être échantillonnée, découper plusieurs épaisseurs sur le dessus et les retirer afin d'éliminer la contamination en surface. Utiliser un couteau stérile et découper plusieurs feuilles (voir le troisième paragraphe du présent article). Retirer la feuille supérieure.

Dans les autres cas, procéder à l'échantillonnage d'un nombre suffisant d'unités pour que le matériau d'essai soit représentatif du lot de papier, de carton ou de pâte marchande sèche soumis à l'essai. Dans toutes les procédures d'échantillonnage et d'examen, s'assurer que le matériau d'essai est représentatif de l'échantillon reçu.

Il est recommandé qu'un échantillon contienne au minimum cinq feuilles (dont au moins trois feuilles pour les essais et deux servant à la protection), ayant chacune une dimension minimale de 200 mm × 250 mm de pâte marchande sèche, papier ou carton.

Après l'échantillonnage, envelopper le matériau d'essai non exposé dans un matériau d'emballage approprié (6.6).

## 8 Préparation du matériau d'essai

Il est préférable de mener la procédure sous une hotte stérile. La pesée a lieu en dehors de la hotte. Déballez le matériau d'essai dans des conditions aseptiques et ôtez les feuilles servant à la protection sans toucher les feuilles d'essais.

### 8.1 Détermination de la teneur en matière sèche

Si le résultat doit être donné en utilisant la masse sèche comme base, déterminer la teneur en matière sèche du matériel d'essai,  $x$ , selon l'ISO 287 ou l'ISO 638, selon le cas.