

---

---

**Microbiologie des aliments — Méthode  
horizontale pour le dénombrement des  
micro-organismes psychrotrophes**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the  
enumeration of psychrotrophic microorganisms*

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

ISO 17410:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001>



**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 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 17410:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001>

© ISO 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 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.ch](mailto:copyright@iso.ch)  
Web [www.iso.ch](http://www.iso.ch)

Imprimé en Suisse

## 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.

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 de la présente Norme internationale 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.

La Norme internationale ISO 17410 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

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

[ISO 17410:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001>

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

ISO 17410:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-60c230d1a393/iso-17410-2001>

# Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de dénombrement des micro-organismes psychrotrophes par le biais d'une technique de comptage des colonies à 6,5 °C. Cette méthode est applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou aux aliments destinés aux animaux.

## 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 6887-1, *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.*<sup>1)</sup>

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

ISO 8261, *Lait et produits laitiers — Préparation des échantillons pour essai et des dilutions en vue de l'examen microbiologique.*

## 3 Terme et définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, le terme et la définition suivants s'appliquent.

### 3.1

#### **micro-organisme psychrotrophe**

bactéries, levures ou moisissures formant des colonies comptables dans les conditions spécifiées dans la présente Norme internationale

## 4 Principe

4.1 Préparation de deux boîtes de Petri à partir d'un milieu de culture solide non sélectif et à partir d'une quantité déterminée d'échantillon pour essai si le produit initial est liquide ou, dans le cas des autres produits, à partir d'une quantité déterminée de suspension mère. Pour éviter les contraintes thermiques, l'inoculation est faite en surface.

1) Les parties 2 à 5 de l'ISO 6887 sont en préparation (voir la bibliographie).

## ISO 17410:2001(F)

Préparation d'autres paires de boîtes de Petri dans les mêmes conditions à partir de dilutions décimales de l'échantillon pour essai ou à partir de la suspension mère.

**4.2** Incubation en aérobiose des boîtes à 6,5 °C pendant 10 jours.

**4.3** Calcul du nombre de micro-organismes par millilitre ou par gramme d'échantillon à partir du nombre de colonies obtenues sur les boîtes choisies.

## 5 Milieux de culture et diluants

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO 7218.

Sauf spécification contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

Si les milieux de culture et les réactifs préparés ne sont pas utilisés immédiatement, les conserver, sauf spécification contraire, à l'abri de la lumière à une température de 3 °C ± 2 °C pendant une période n'excédant pas 1 mois dans des conditions n'entraînant pas de modification de leur composition.

### 5.1 Diluant

Voir l'ISO 6887-1.

### 5.2 Milieu de comptage

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

#### 5.2.1 Composition

Digestat enzymatique de caséine	5,0 g	<a href="https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-000230d1a393/iso-17410-2001">ISO 17410:2001</a>
Extrait de levure	2,5 g	<a href="https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-000230d1a393/iso-17410-2001">https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-000230d1a393/iso-17410-2001</a>
Glucose	1,0 g	
Agar-agar	9 g à 18 g <sup>a</sup>	
Eau	1 000 ml	
<sup>a</sup> Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar.		

Dans le cas d'analyse de produits laitiers, il est recommandé d'ajouter 1,0 g de lait en poudre écrémé par litre de milieu de culture. Le lait en poudre écrémé doit être exempt de substances inhibitrices.

#### 5.2.2 Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu de culture complet déshydraté dans de l'eau, en chauffant si nécessaire. Homogénéiser et laisser reposer plusieurs minutes. À l'aide du pH-mètre (6.9), ajuster, si besoin est, le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,0 ± 0,2 à 25 °C.

Verser le milieu dans des fioles ou flacons (6.10) par quantité appropriées. Stériliser pendant 15 min à l'autoclave (6.1) réglé à 121 °C.

Si le milieu est à utiliser immédiatement, le refroidir avant l'emploi dans un bain d'eau (6.7) réglé à une température comprise entre 44 °C et 47 °C. Dans le cas contraire, laisser le milieu se solidifier dans la fiole ou le flacon. Avant l'emploi, faire fondre le milieu complètement dans un bain d'eau bouillante, puis le refroidir dans un bain d'eau (6.7) réglé à une température comprise entre 44 °C et 47 °C.

Placer dans chacune d'un nombre approprié de boîtes de Petri (6.5) environ 15 ml du milieu de culture complet préparé extemporanément ou refondu. Laisser se solidifier.

Immédiatement avant l'emploi, placer les boîtes de Petri soigneusement (de préférence couvercle enlevé et surface gélosée sur le dessous) dans un incubateur (6.3) réglé entre 37 °C et 55 °C jusqu'à ce que la surface gélosée soit sèche. Le séchage des boîtes contenant le milieu gélosé peut aussi être réalisé sous hotte à flux laminaire pendant 30 min avec le couvercle entrouvert ou toute une nuit avec le couvercle en place (ISO 7218).

## 6 Appareillage et verrerie

Pour les exigences générales, voir l'ISO 7218.

Un appareillage jetable constitue une alternative acceptable à la verrerie réutilisable si ses spécifications sont similaires.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et, en particulier, ce qui suit.

- 6.1 Autoclave**, capable de fonctionner à une température de 121 °C.
- 6.2 Étuve pour stérilisation en chaleur sèche**, capable de fonctionner à une température comprise entre 170 °C et 175 °C pendant 1 h.
- 6.3 Incubateur**, capable de fonctionner à une température comprise entre 37 °C et 55 °C.
- 6.4 Incubateur**, capable de fonctionner à une température de 6,5 °C ± 1 °C.
- 6.5 Boîtes de Petri**, en verre ou en plastique, de diamètre d'environ 90 mm à 100 mm.
- 6.6 Pipettes**, calibrées pour un usage bactériologique, de capacité nominale de 0,1 ml, 1 ml et 10 ml.
- 6.7 Bains d'eau** ou appareils similaires, l'un capable de fonctionner à une température comprise entre 44 °C et 47 °C et l'autre pouvant être amené à ébullition. [ISO 17410:2001](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-747474747474)
- 6.8 Appareil de comptage des colonies**, constitué d'une base éclairée et, en option, d'un compteur numérique mécanique ou électronique.
- 6.9 pH-mètre**, ayant une précision de lecture de ± 0,01 unité pH à 25 °C, permettant de réaliser des mesures précises à ± 0,1 unité pH.
- 6.10 Fioles ou flacons**, de capacité appropriée, pour la préparation, la stérilisation et, si nécessaire, la conservation des milieux de culture.
- 6.11 Étaliers (râteaux)**, stériles, en verre ou en plastique, pour étaler l'inoculum en surface du milieu de culture.

## 7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié pendant le transport ou le stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. S'il n'existe aucune Norme internationale traitant de l'échantillonnage du produit concerné, il est recommandé aux parties concernées de conclure un accord à ce sujet.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 6887-1 ou, pour les produits laitiers, conformément à l'ISO 8261.

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions

Préparer la prise d'essai, la suspension mère (dilution primaire) et les dilutions suivantes conformément à l'ISO 6887-1 ou, pour les produits laitiers, conformément à l'ISO 8261.

### 9.2 Ensemencement et incubation

**9.2.1** Préparer deux boîtes avec l'échantillon pour essai (cas des produits liquides) ou avec la suspension mère (cas des autres produits) et pour chacune des dilutions choisies. À l'aide d'une pipette stérile (6.6), transférer 0,1 ml de produit liquide, de suspension mère (dilution primaire) ou des dilutions appropriées au centre de chaque boîte de Petri étiquetée contenant le milieu de comptage des boîtes (5.3).

**9.2.2** À l'aide d'un étaleur (6.11), étaler l'inoculum avec soin, de façon uniforme et aussi rapidement que possible à la surface de la boîte de Petri, sans toucher les bords de la boîte et jusqu'à ce qu'il ne reste plus de liquide visible sur la gélose. Il convient de prévoir une boîte témoin sans inoculum pour vérifier la stérilité. Utiliser un étaleur stérile pour chaque boîte.

Il est possible d'utiliser le même étaleur pour toutes les dilutions d'un échantillon donné, à condition de commencer par la dilution la plus forte et de poursuivre dans l'ordre jusqu'à la dilution la plus faible, c'est-à-dire celle contenant la plus grande quantité de produit à analyser.

**9.2.3** Retourner les boîtes préparées en 9.2.2 et les placer dans l'incubateur (6.4) réglé à 6,5 °C. Laisser incuber pendant 10 jours.

### 9.3 Comptage des colonies

Au terme de la période d'incubation (voir 9.2.3.), procéder au comptage des colonies, à l'aide de l'appareil de comptage des colonies (6.8), dans les boîtes de Petri qui en contiennent moins de 150. Il est important d'inclure dans le chiffre les colonies en forme de tête d'épingle, mais il est essentiel que l'opérateur évite de confondre ces colonies avec des matières non dissoutes ou précipitées dans la boîte.

Les colonies envahissantes doivent être considérées comme des colonies uniques. Si moins du quart de la boîte est envahi par des colonies envahissantes, compter les colonies se trouvant sur la partie non touchée de la boîte et extrapoler le nombre correspondant à la boîte entière. Si plus du quart de la boîte est envahi par des colonies envahissantes, ne pas tenir compte du chiffre obtenu pour cette boîte.

## 10 Calcul et expression des résultats

### 10.1 Calcul

Voir l'ISO 7218.

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de compter les colonies sur au moins une boîte contenant au minimum 15 colonies.

Calculer le nombre,  $N$ , d'unités formant colonies (UFC) de micro-organismes psychrotrophes, par gramme ou par millilitre d'échantillon, à l'aide de l'équation (1):

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2) d} \quad (1)$$



où

$\sum C$  est la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives, dont une au moins contient au minimum 15 colonies;

$V$  est le volume, en millilitres, de l'inoculum appliqué à chaque boîte;

$n_1$  est le nombre de boîtes retenues à la première dilution;

$n_2$  est le nombre de boîtes retenues à la seconde dilution;

$d$  est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

NOTE La plus faible dilution est celle qui renferme la plus forte concentration en échantillon pour essai.

## 10.2 Expression des résultats

### 10.2.1 Cas général: Boîtes contenant entre 15 et 150 colonies

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs. Pour cela, si le troisième chiffre est inférieur à 5, le chiffre précédent n'est pas modifié; si le troisième chiffre est supérieur ou égal à 5, le chiffre précédent est augmenté d'une unité. Par exemple arrondir 28 500 à 29 000 et 11 500 à 12 000.

Retenir comme résultat le nombre d'UFC de micro-organismes psychrotrophes par millilitre (pour les produits liquides) ou par gramme (pour les autres produits) exprimé, de préférence, sous la forme d'un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance appropriée de 10, ou sous la forme d'un nombre entier avec deux chiffres significatifs.

### 10.2.2 Estimation des petits nombres

ISO 17410:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c315dc77-6526-48b2-b210-00c23b01a575/iso-17410-2001>

Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits) contiennent moins de 15 colonies, calculer la moyenne arithmétique des colonies comptées sur les deux boîtes.

Exprimer le résultat comme suit:

— nombre estimé,  $N_E$ , de micro-organismes psychrotrophes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits), en utilisant l'équation (2):

$$N_E = \frac{\sum C}{(V \cdot n \cdot d)} \quad (2)$$

où

$\sum C$  est la somme des colonies comptées sur les deux boîtes;

$V$  est le volume, en millilitres, de l'inoculum appliqué à chaque boîte;

$n$  est le nombre de boîtes retenues (dans le cas présent  $n = 2$ );

$d$  est le taux de dilution de la suspension mère ou de la dilutionensemencée.

### 10.2.3 Aucune colonie présente

Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits) ne contiennent aucune colonie, exprimer le résultat comme suit: