
**Microbiologie des aliments — Exigences
générales et recommandations**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements
and guidance for microbiological examinations*

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 7218:2007](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007>



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 Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 7218:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2007

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.....	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application.....	1
2 Références normatives	1
3 Locaux	2
3.1 Généralités	2
3.2 Considérations de sécurité.....	2
3.3 Conception du laboratoire	3
3.4 Locaux du laboratoire	3
3.5 Implantation et aménagement des locaux	4
3.6 Nettoyage et désinfection	5
4 Personnel.....	6
4.1 Généralités	6
4.2 Compétence	6
4.3 Vérification de la compétence actuelle du personnel.....	6
4.4 Hygiène	6
5 Appareillage et matériel	7
5.1 Généralités	7
5.2 Hottes de sécurité.....	7
5.3 Balances et diluteurs gravimétriques.....	9
5.4 Homogénéisateur, mélangeur et mixeurs	9
5.5 pH-mètre	10
5.6 Autoclave.....	11
5.7 Préparateur de milieux de culture.....	13
5.8 Étuve	13
5.9 Réfrigérateur, chambre froide	14
5.10 Congélateur et surgélateur	15
5.11 Bain thermostaté.....	16
5.12 Matériels produisant de la vapeur, y compris les bains d'eau bouillante	17
5.13 Four à stériliser.....	18
5.14 Four à micro-ondes	18
5.15 Lave-verrerie	19
5.16 Microscope optique.....	20
5.17 Brûleur à gaz ou incinérateur à fil.....	20
5.18 Répartiteur de milieux de culture et de réactifs	21
5.19 Agitateur vortex	22
5.20 Dispositif de comptage des colonies	22
5.21 Matériel pour culture en atmosphère modifiée.....	23
5.22 Centrifugeuse.....	23
5.23 Plaque chauffante et chauffe-ballons	24
5.24 Ensemenceur spiral.....	24
5.25 Distillateurs, déionisateurs et osmoseurs	25
5.26 Minuteurs et minuteriers	26
5.27 Pipettes et pipetteurs	26
5.28 Thermomètres et dispositifs de surveillance de la température, incluant les enregistreurs automatiques.....	27
5.29 Séparateur immunomagnétique	29
5.30 Système de filtration.....	29
5.31 Autres matériels et logiciels	29

6	Préparation de la verrerie et du matériel	29
6.1	Préparation	29
6.2	Stérilisation/décontamination	30
6.3	Matériel à usage unique	30
6.4	Stockage de la verrerie et du matériel	30
6.5	Gestion de la verrerie et du matériel stériles	30
6.6	Utilisation de la décontamination et de la désinfection	30
6.7	Gestion des déchets	31
6.8	Lavage	32
7	Préparation et stérilisation des milieux de culture	32
8	Échantillons pour le laboratoire	32
8.1	Prélèvement	32
8.2	Transport	32
8.3	Réception	33
8.4	Stockage	34
8.5	Prise d'essai	34
9	Examen	34
9.1	Précautions hygiéniques pendant l'analyse	34
9.2	Préparation de la suspension mère et des dilutions	36
10	Dénombrement	37
10.1	Généralités	37
10.2	Dénombrement sur milieu solide	37
10.3	Calcul et expression des résultats sur milieu solide	40
10.4	Dénombrement des levures et moisissures	46
10.5	Dénombrement en milieu liquide	46
11	Méthode de détection (méthode qualitative)	52
11.1	Généralités	52
11.2	Principe	53
11.3	Mesure de l'incertitude	53
12	Méthodes de confirmation	53
12.1	Généralités	53
12.2	Préparation d'une culture pure	53
12.3	Coloration de Gram (technique de Hucker modifiée)	53
12.4	Utilisation de galeries biochimiques pour l'identification	55
12.5	Utilisation de sondes nucléiques pour l'identification	55
12.6	Méthodes sérologiques	56
13	Rapport d'essai	57
14	Validation des méthodes microbiologiques	57
14.1	Validation des méthodes de référence	57
14.2	Validation des méthodes alternatives	57
14.3	Validation des méthodes d'analyse internes	57
15	Assurance qualité des résultats/contrôle de la qualité des performances	57
15.1	Contrôle interne de la qualité	57
15.2	Souches de référence	58
15.3	Évaluation externe de la qualité (essai d'aptitude)	58
Annexe A (informative) Propriétés de certains désinfectants		59
Annexe B (normative) Détermination du nombre le plus probable (NPP)		60
Bibliographie		67

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 7218 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 275, *Analyse des produits alimentaires — Méthodes horizontales*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 7218:1996), qui a fait l'objet d'une révision technique. Elle incorpore également l'Amendement ISO 7218:1996/Amd.1:2001.

[ISO 7218:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007>

Introduction

Lorsque des examens microbiologiques sont effectués, il est particulièrement important

- d'isoler ou de dénombrer seulement les micro-organismes présents dans les échantillons, et
- que les micro-organismes ne contaminent pas l'environnement.

Pour cela, il est nécessaire de veiller à l'hygiène du personnel et d'utiliser des techniques de travail qui assurent, autant que possible, l'absence de contamination par l'environnement de l'essai.

Puisqu'il n'est possible de donner dans la présente Norme internationale que quelques exemples des précautions à prendre pendant les examens microbiologiques, une connaissance approfondie des techniques microbiologiques et des micro-organismes en question est essentielle. Il est important que les examens soient conduits avec le plus de précision possible, qu'ils comprennent les aspects liés au contrôle et à l'enregistrement pouvant avoir une incidence sur les résultats ainsi que sur le calcul du nombre de micro-organismes et de l'incertitude de mesure des résultats.

En dernier ressort, c'est au responsable du laboratoire de juger de la sécurité des manipulations et de la bonne pratique de laboratoire.

De nombreuses manipulations peuvent, par exemple, entraîner involontairement des contaminations croisées et il est recommandé que l'analyste vérifie toujours la fiabilité des résultats donnés par la méthode.

Afin d'exécuter les examens de façon correcte, il est nécessaire de prendre certaines précautions lors de la construction et de l'installation du laboratoire.

Certaines précautions sont à prendre, non seulement pour des raisons d'hygiène, mais également pour assurer une bonne reproductibilité des résultats. Il n'est pas possible de spécifier toutes les précautions à prendre selon les circonstances, mais au moins la présente Norme internationale décrit-elle les mesures principales à prendre lors de la préparation, de la stérilisation et de la conservation des milieux et de l'utilisation du matériel.

Si les recommandations indiquées dans la présente Norme internationale sont suivies, elles contribueront également à la protection de la santé et de la sécurité du personnel. Pour de plus amples informations à ce sujet, consulter la littérature mentionnée dans la Bibliographie.

Afin de distinguer les recommandations dans la présente Norme internationale, celles-ci ont été imprimées dans une fonte différente (Times New Roman).

Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie des exigences générales et des recommandations/options visant trois utilisations principales:

- l'application des normes élaborées par l'ISO TC 34/SC 9 ou l'ISO TC 34/SC 5 pour la détection ou le dénombrement des micro-organismes, nommées ci-après «normes spécifiques»;
- la bonne pratique de laboratoire pour les laboratoires de microbiologie alimentaire (la présente Norme internationale ne vise pas à les détailler, des manuels sont disponibles à cet effet);
- les recommandations relatives à l'accréditation des laboratoires de microbiologie alimentaire (la présente Norme internationale décrit les exigences techniques conformes à l'Annexe B de l'ISO/CEI 17025:2005 relative à l'accréditation d'un laboratoire de microbiologie par les organismes nationaux).

Les exigences de la présente Norme internationale prennent le pas sur les exigences correspondantes des normes spécifiques existantes.

Des instructions supplémentaires concernant les examens de biologie moléculaire sont spécifiées dans l'ISO 22174.

La présente Norme internationale couvre l'examen pour les bactéries, les levures et les moisissures et peut être utilisée si elle est complétée par des recommandations spécifiques sur les prions, les parasites et les virus. La présente Norme internationale ne traite pas de l'examen des toxines ou autres métabolites (par exemple les amines) provenant de micro-organismes.

La présente Norme internationale s'applique à la microbiologie des aliments, des aliments pour animaux, à l'environnement de production d'aliments et à l'environnement de production primaire.

L'objet de la présente Norme internationale est d'aider à garantir la validité des examens microbiologiques des aliments, à s'assurer que les méthodes générales utilisées pour effectuer ces examens sont les mêmes dans tous les laboratoires, à participer ainsi à l'obtention de résultats homogènes dans les différents laboratoires et à contribuer à la sécurité du personnel de laboratoire, en prévenant les risques d'infection.

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 835 (toutes les parties), *Verrerie de laboratoire — Pipettes graduées*

ISO 6887 (toutes les parties), *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

ISO 8199, *Qualité de l'eau — Lignes directrices générales pour le dénombrement des micro-organismes sur milieu de culture*

ISO 8261, *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 8655-1, *Appareils volumétriques à piston — Partie 1: Définitions, exigences générales et recommandations pour l'utilisateur*

ISO/TS 11133 (toutes les parties), *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture*

ISO 16140, *Microbiologie des aliments — Protocole pour la validation des méthodes alternatives*

ISO/TS 19036, *Microbiologie des aliments — Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives*

ISO 22174, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences générales et définitions*

3 Locaux

3.1 Généralités

Le présent article décrit les exigences générales, par exemple le principe de conception et d'organisation, relatives à l'aménagement du laboratoire de microbiologie.

Les examens des échantillons de la production primaire (spécialement pour la réception et la préparation des échantillons) doivent être séparés des examens des autres échantillons afin de réduire les risques de contaminations croisées.

3.2 Considérations de sécurité

La conception du laboratoire doit être conforme aux exigences en matière de sécurité qui dépendent du type de micro-organisme. À cet effet, les micro-organismes sont répartis en quatre catégories de risque:

— **Catégorie de risque 1** (aucun risque ou risque très faible pour l'individu et la collectivité).

Micro-organisme dont la probabilité de causer une maladie chez l'homme et l'animal est faible.

— **Catégorie de risque 2** (risque modéré pour l'individu et faible pour la collectivité).

Agent pathogène pouvant provoquer une maladie chez l'homme ou l'animal, mais présentant un faible risque pour le personnel de laboratoire, la collectivité ou l'environnement. Il peut présenter un danger sérieux pour le personnel de laboratoire exposé à celui-ci, mais il existe un traitement efficace et des mesures de prophylaxie. Le risque de propagation de l'infection est limité.

— **Catégorie de risque 3** (risque élevé pour l'individu et faible pour la collectivité).

Agent pathogène provoquant généralement des maladies graves chez l'homme ou l'animal, mais qui normalement ne se propage pas d'un individu infecté à un autre. Il existe un traitement efficace et des mesures de prophylaxie.

— **Catégorie de risque 4** (risque élevé pour l'individu et la collectivité).

Agent pathogène provoquant généralement des maladies graves chez l'homme ou l'animal et pouvant se transmettre facilement d'un individu à l'autre, directement ou indirectement. Il n'existe généralement pas de traitement efficace, ni de mesures de prophylaxie.

AVERTISSEMENT — Se référer aux réglementations nationales définissant en particulier la catégorie de risque des micro-organismes présents dans le pays concerné.

3.3 Conception du laboratoire

Les lignes directrices relatives à l'aménagement du laboratoire décrites ci-après portent sur les examens visant à détecter les micro-organismes appartenant aux catégories de risque 1, 2 et 3.

Il est recommandé de noter que des mesures de sécurité supplémentaires peuvent être nécessaires en fonction de la législation en vigueur.

3.4 Locaux du laboratoire

3.4.1 Généralités

Le laboratoire comprend les zones dédiées à la manipulation des échantillons et aux essais (voir 3.4.2) et les zones à usage général (voir 3.4.3). Elles doivent être séparées.

3.4.2 Locaux dédiés à la manipulation des échantillons et aux essais

On considère comme étant de la bonne pratique de disposer de locaux séparés ou de zones clairement identifiées, pour réaliser les manipulations suivantes:

- la réception et le stockage des échantillons;
- la préparation des échantillons, en particulier dans le cas des matières premières (par exemple les produits en poudre contenant un nombre élevé de micro-organismes);
- l'examen des échantillons (à partir de la suspension mère), y compris l'incubation des micro-organismes;
- la manipulation d'agents présumés pathogènes;
- le stockage des souches de référence et de souches d'autres micro-organismes;
- la préparation et la stérilisation des milieux de culture et du matériel;
- le stockage des milieux de culture et des réactifs;
- le contrôle de la stérilité des produits alimentaires;
- la décontamination;
- le nettoyage de la verrerie et des autres matériels;
- le stockage des produits chimiques dangereux, de préférence dans des sorbonnes, des armoires, des salles ou des bâtiments spécifiques.

3.4.3 Locaux généraux

Sont considérés dans cette catégorie les locaux suivants:

- les accès, les couloirs, les escaliers, les monte-charges ou les ascenseurs;
- les locaux administratifs (par exemple secrétariat, bureaux, salles de documentation, etc.);
- les vestiaires et les sanitaires;
- les salles d'archive;

- les magasins;
- les salles de repos.

3.5 Implantation et aménagement des locaux

3.5.1 Objectifs

L'objectif est de s'assurer que l'environnement dans lequel les examens microbiologiques sont effectués n'affecte pas la fiabilité des essais.

Agencer les locaux de façon à éviter les risques de contamination croisée. Pour atteindre cet objectif, il faut, par exemple:

- a) construire le laboratoire en appliquant le principe de la «marche en avant»;
- b) exécuter les modes opératoires de façon séquentielle, en prenant les précautions appropriées permettant de garantir l'intégrité de l'essai et de l'échantillon (par exemple en utilisant des conteneurs étanches);
- c) séparer les activités dans le temps ou l'espace.

Éviter les conditions extrêmes telles que l'excès de température, de poussière, d'humidité, de vapeur, de bruit, de vibration, etc.

Il est recommandé que la surface soit suffisante pour maintenir les zones de travail propres et en ordre. Il est recommandé que la surface requise soit adaptée au volume des analyses réalisées et à l'organisation générale interne du laboratoire. Il est recommandé enfin que la surface soit conforme aux réglementations nationales, le cas échéant.

3.5.2 Aménagement

Il est recommandé que les locaux d'essai soient conçus et équipés comme suit, de façon à réduire le risque de contamination par la poussière et donc par les micro-organismes (pour les micro-organismes de classe 3, se référer aux réglementations nationales).

- a) Il est recommandé que les murs, les plafonds et les sols soient lisses, faciles à nettoyer, résistants aux produits détergents et aux désinfectants utilisés dans les laboratoires.
- b) Il est recommandé que les sols soient antidérapants.
- c) À moins d'être hermétiquement enfermées, il est recommandé que les conduites de fluides en hauteur ne traversent pas les locaux; il est recommandé que toutes les structures en hauteur soient recouvertes ou facilement accessibles pour permettre un nettoyage régulier.
- d) Il est recommandé que les fenêtres et les portes puissent être fermées lors des essais afin de réduire le plus possible tout courant d'air; d'autre part, il est recommandé que leur conception permette d'éviter les nids à poussière en facilitant leur nettoyage. Il est recommandé que la température ambiante (comprise entre 18 °C et 27 °C) et la qualité de l'air (teneur en micro-organismes, taux d'empoussièrément, etc.) soient compatibles avec la conduite des essais. À cet effet, il est recommandé d'installer un système de ventilation à filtre pour l'air aspiré et l'air évacué.
- e) Il est recommandé d'installer un système d'extraction approprié afin d'éviter toute exposition à la poussière résultant de la manipulation des milieux de culture déshydratés et des échantillons pulvérulents ou en poudres.
- f) Quand des essais sont à réaliser en atmosphère très peu contaminée, il est recommandé que le local soit spécialement équipé d'une hotte à flux d'air laminaire et/ou d'une hotte de sécurité.
- g) Le cas échéant, il est recommandé de protéger l'environnement du laboratoire des effets nocifs des rayonnements solaires en utilisant des fermetures ou des panneaux en verre traité prévus à cet effet. Il est déconseillé d'utiliser des stores à l'intérieur, ceux-ci pouvant s'avérer difficiles à nettoyer et devenir une source de poussières.

3.5.3 Autres points

Il est recommandé de prendre en compte les éléments suivants:

- alimentation en eau; considérer la qualité de l'eau en fonction de l'utilisation qui en est faite;
- électricité;
- gaz (de ville ou en bouteille);
- éclairage suffisant dans toutes les parties du laboratoire;
- il est recommandé que les paillasses et le mobilier de laboratoire soient constitués de matériaux lisses, imperméables, faciles à nettoyer et à désinfecter;
- il est recommandé que les mobiliers de laboratoire soient conçus pour faciliter le nettoyage des sols (par exemple meubles mobiles);
- il est recommandé de ne conserver aucun meuble, document ou élément autre que ceux strictement nécessaires aux activités d'essai dans la zone dédiée aux essais;
- il est recommandé que des équipements de stockage soient disponibles pour le rangement des documents utilisés lors de la manipulation des échantillons, des milieux de culture, des réactifs, etc.;
- pour le lavage des mains, il est recommandé d'installer des lavabos dans chaque salle de laboratoire, et, le cas échéant, dans les locaux généraux, de préférence près de la porte;
- il est recommandé de prévoir un autoclave pour la destruction des déchets et des milieux de culture contaminés; à moins de disposer d'un système approprié d'élimination des déchets contaminés destinés à être incinérés;
- il est recommandé que les systèmes de sécurité comprennent des installations de secours en cas d'incendie, d'accident électrique ainsi qu'une douche d'urgence et un équipement pour le lavage des yeux;
- il est recommandé de prévoir du matériel de premier secours.

3.6 Nettoyage et désinfection

Il est recommandé de vérifier les éléments suivants.

- a) Il est recommandé d'entretenir et de réparer régulièrement les sols, les murs, les plafonds, les paillasses, les mobiliers de laboratoire ainsi que les points où ils sont en contact ou se rejoignent, afin d'éviter l'apparition de fissures pouvant constituer une source de contamination.
- b) Il est recommandé de procéder régulièrement au nettoyage et à la désinfection des locaux afin de les maintenir dans un état compatible avec la réalisation des essais. Il est recommandé que les surfaces contaminées ou potentiellement contaminées soient décontaminées à l'aide d'un désinfectant connu pour son action bactéricide et fongicide.

NOTE 1 Les salles et le matériel peuvent être décontaminés par fumigation à l'aide de formaldéhyde en phase vapeur, si cela est autorisé par les réglementations nationales.

- c) Il est recommandé d'entretenir régulièrement les systèmes de ventilation et leurs filtres, et de changer ces derniers autant que nécessaire.
- d) Il est recommandé de contrôler régulièrement la qualité microbiologique des surfaces de travail du laboratoire, des surfaces en contact avec le personnel et de l'air (la fréquence dépend des résultats de l'essai précédent).
- e) La contamination des surfaces peut être estimée par application directe d'une boîte de contact dont la gélose contient des agents neutralisants contre les désinfectants (tels que la lécithine, le thiosulfate de sodium). La qualité de l'air peut être examinée par exposition pendant 15 min d'une boîte de Petri ouverte contenant un milieu de culture gélosé

non sélectif (par exemple «plate count agar» — PCA) ou un milieu de culture gélosé sélectif approprié pour le micro-organisme cible cherché (par exemple moisissures).

NOTE 2 D'autres méthodes peuvent également être utilisées pour estimer la contamination des surfaces et de l'air. Voir l'ISO 18593.

4 Personnel

4.1 Généralités

Les exigences générales relatives aux compétences du personnel du laboratoire sont décrites dans l'ISO/CEI 17025.

4.2 Compétence

Des critères objectifs doivent être définis pour l'évaluation des compétences appropriées à chaque méthode ou technique, dès l'origine et par la suite.

Les compétences peuvent être établies dans le laboratoire par le biais d'un contrôle qualité interne (voir 15.1.2).

NOTE L'une des méthodes permettant de rechercher la cause de performances insuffisantes (pipetage, défaut d'homogénéité de la suspension mère, comptage, etc.) dans le cas de dénombrements par comptage des colonies est indiquée dans l'ISO 14461-1.

4.3 Vérification de la compétence actuelle du personnel

Il est recommandé que la compétence actuelle du personnel soit évaluée régulièrement par rapport à des paramètres objectifs. Cela comprend la participation à des programmes internes de management de la qualité, à des essais d'aptitude (se référer au Guide ISO/CEI 43-1), l'utilisation de matériaux de référence ou la réalisation d'essais d'auto-évaluation pour le dénombrement des micro-organismes tel que décrit dans l'ISO 14461-2.

4.4 Hygiène

Dans le domaine de l'hygiène du personnel, les précautions suivantes doivent être prises pour éviter la contamination des échantillons et des milieux de culture, et pour éviter des risques d'infection du personnel.

- a) Porter des vêtements de laboratoire correctement fermés, propres et en bon état, réalisés dans un tissu limitant les risques d'inflammabilité. Ces vêtements ne doivent pas être portés hors des locaux d'essai et, éventuellement, des vestiaires.
- b) Porter des protections pour les cheveux et la barbe, si nécessaire pour l'intégrité de l'échantillon.
- c) Garder des ongles propres et, de préférence, courts.
- d) Se laver soigneusement les mains à l'eau tiède, distribuée de préférence par un robinet à commande non manuelle avant et après les examens microbiologiques et immédiatement après chaque passage aux toilettes. Utiliser un savon liquide ou solide, éventuellement un désinfectant, délivré de préférence par un distributeur maintenu en bon état de propreté. Pour se sécher les mains, utiliser des serviettes en papier ou en tissu à usage unique. Ces précautions sont valables tant pour les employés du laboratoire que pour les visiteurs.
- e) Pendant le travail avec des échantillons, des cultures ou des milieux contaminés, et pendant les ensemencements, éviter de parler, de tousser, etc.;
- f) Les personnes présentant des infections de la peau ou des maladies doivent prendre des précautions particulières si les micro-organismes de ces infections ou maladies sont susceptibles de contaminer les échantillons et risquent de fausser les résultats.

- g) Ne pas manger ni boire dans le laboratoire et ne pas placer d'aliments destinés à la consommation personnelle dans les réfrigérateurs et les congélateurs du laboratoire.
- h) Le pipetage à la bouche est à proscrire.

5 Appareillage et matériel

5.1 Généralités

Conformément à la bonne pratique de laboratoire, il est recommandé que tous les appareils et matériel soient propres et en bon état de fonctionnement. Avant utilisation, il est recommandé de vérifier que le matériel est adapté à la finalité prévue et de contrôler ses performances lors de son utilisation, le cas échéant.

Si nécessaire, il est recommandé d'étalonner le matériel et les dispositifs de surveillance à l'aide d'étalons nationaux identifiés et de procéder au réétalonnage et à toutes vérifications intermédiaires avec des modes opératoires et des résultats documentés.

Il est recommandé de vérifier et d'entretenir régulièrement le matériel afin de garantir son aptitude à l'emploi et la sécurité. Il est recommandé de contrôler le matériel en fonction des conditions d'utilisation et de l'exactitude exigée par les résultats.

Dans la plupart des cas, la fréquence d'étalonnage et de vérification de chaque pièce d'équipement n'est pas mentionnée dans la présente Norme internationale, étant donné que cette fréquence doit être déterminée par chaque laboratoire en fonction du type d'équipement, du niveau d'activité du laboratoire, ainsi que des instructions du fabricant. Dans certains cas, et lorsqu'elle est considérée comme essentielle, la fréquence a été spécifiée.

L'appareillage et le matériel doivent être construits et installés de sorte à faciliter leur utilisation, entretien, nettoyage, décontamination et étalonnage.

Toutes les incertitudes de mesure données dans le présent chapitre correspondent à l'appareillage et à l'équipement concernés, et non pas à l'ensemble de la méthode d'analyse.

Dans tout ce chapitre, des recommandations pour l'exactitude de la mesure de l'appareillage de mesure sont données. Celles-ci sont basées sur la tolérance pratique recommandée pour démontrer le contrôle approprié du matériel de routine. L'exactitude indiquée est liée à l'incertitude métrologique du dispositif (se référer au Guide ISO 99).

Pour le matériel possédant un contrôle de la température, vérifier la stabilité et l'homogénéité de la température avant l'utilisation initiale et après n'importe quelle réparation ou modification qui pourrait avoir un effet sur le contrôle de la température.

5.2 Hottes de sécurité

5.2.1 Description

Une hotte de sécurité est un poste de travail à écoulement d'air laminaire horizontal ou vertical conçu pour retirer de l'air la poussière et les autres particules, tels que les micro-organismes.

Le nombre maximal admissible de particules de dimension supérieure ou égale à 0,5 µm par mètre cube correspond à la classe d'empoussièrement d'une hotte de sécurité. Pour les hottes utilisées en microbiologie alimentaire, le nombre de particules ne doit pas dépasser 4 000 par mètre cube.

Les hottes utilisées dans les laboratoires de microbiologie alimentaire sont de quatre types.

- a) Les hottes de sécurité de classe I sont des hottes ouvertes sur le devant avec évacuation de l'air, destinées à la protection de l'opérateur et de l'environnement mais qui ne protègent pas le produit d'une

contamination par l'environnement de l'essai. Les aérosols potentiellement infectés sont contenus dans la hotte et retenus sur le filtre par impaction. Généralement, l'air filtré est évacué dans l'atmosphère; si ce n'est pas le cas, l'air doit passer à travers deux filtres HEPA montés en série. Lorsque les travaux impliquent des agents pathogènes appartenant au groupe de risque 3, il est déconseillé d'utiliser ces hottes, en raison des difficultés à assurer la protection de l'opérateur.

- b) Les hottes de sécurité de classe II protègent le produit, l'opérateur et l'environnement. Elles font recirculer une quantité d'air filtré, évacuent une quantité d'air dans l'atmosphère qui est remplacée par de l'air entrant par l'ouverture de travail, ce qui assure la protection de l'opérateur. Elles conviennent pour un travail effectué avec des agents pathogènes du groupe de risque 3.
- c) Les hottes à flux d'air laminaire horizontal protègent le travail de la contamination, mais expulsent tout aérosol généré en direction du visage de l'opérateur. Par conséquent, elles ne conviennent pas à la manipulation de culturesensemencées ou à la préparation de cultures tissulaires.
- d) Les hottes à flux d'air laminaire vertical protègent le produit en utilisant le flux d'air laminaire vertical traversant le filtre HEPA. Elles protègent également l'opérateur grâce à la recirculation de l'air à l'intérieur. Elles sont particulièrement indiquées pour créer un environnement aseptique approprié à la manipulation de produits stériles et pour la protection de l'opérateur lors de la manipulation de poudres.

Utiliser des hottes de sécurité pour tout travail impliquant la manipulation d'agents pathogènes et de poudres contaminées, si cela est requis par les réglementations nationales.

L'utilisation d'un brûleur à gaz ou d'un incinérateur à fil n'est pas recommandée dans les hottes de sécurité. Si nécessaire, il est recommandé que le brûleur à gaz produise une petite flamme pour ne pas perturber le flux d'air. L'utilisation de matériel à usage unique (anses, pipettes, etc.) constitue une alternative appropriée.

5.2.2 Utilisation

Il est recommandé d'utiliser le moins de matériel possible à l'intérieur de la hotte.

Dans la mesure du possible, placer tous les éléments nécessaires à l'intérieur de la hotte avant de commencer le travail, afin de réduire le plus possible les mouvements de bras à l'intérieur et à l'extérieur de l'ouverture de travail. Placer le matériel et les accessoires de sorte à réduire le plus possible les perturbations du flux d'air au niveau de l'ouverture de travail.

Il est recommandé que les opérateurs reçoivent une formation adaptée à l'utilisation correcte des hottes afin de garantir leur sécurité et l'intégrité du produit ou de la culture.

5.2.3 Nettoyage et désinfection

Nettoyer et désinfecter la zone de travail après utilisation à l'aide d'un désinfectant approprié et non corrosif selon les instructions du fabricant. Vérifier régulièrement les grilles de protection des préfiltres et les nettoyer avec un tissu imprégné d'un désinfectant.

En ce qui concerne les hottes à flux laminaire, il est recommandé d'aspirer régulièrement la face du filtre en prenant soin de ne pas endommager le matériau filtrant.

Il est recommandé de fumiger les hottes de sécurité avant de procéder au changement ou à l'entretien du filtre.

Après nettoyage des hottes, des lampes UV peuvent être utilisées pour la désinfection. Il est recommandé de nettoyer et de remplacer régulièrement les lampes UV, conformément aux instructions du fabricant.

5.2.4 Entretien et contrôle

Utiliser des hottes de sécurité adaptées aux conditions d'utilisation et aux conditions environnementales propres au laboratoire.