
**Microbiologie des aliments —
Méthode horizontale pour
la recherche et le dénombrement
de *Campylobacter* spp. —**

Partie 1:

Méthode de recherche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for
detection and enumeration of Campylobacter spp. —*

ISO 10272-1:2006
Part 1: Detection method

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006>



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 10272-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006>

© ISO 2006

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
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
5 Milieux de culture et réactifs	3
6 Appareillage et verrerie	4
7 Échantillonnage	5
8 Préparation de l'échantillon pour essai	5
9 Mode opératoire (voir sa représentation schématique à l'Annexe A).....	5
10 Expression des résultats	9
11 Rapport d'essai	9
Annexe A (normative) Représentation schématique du mode opératoire	10
Annexe B (normative) Composition et préparation des milieux de culture et des réactifs	11
Bibliographie	18

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 10272-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette première édition de l'ISO 10272-1, ainsi que l'ISO/TS 10272-2:2006, annule et remplace l'ISO 10272:1995, qui fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 10272 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Microbiologie des aliments* — *Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de Campylobacter spp.*:

- *Partie 1: Méthode de recherche*
- *Partie 2: Méthode de dénombrement* (Spécification technique)

Introduction

En raison de la grande diversité des produits alimentaires, il est possible que la présente méthode horizontale ne convienne pas exactement, dans tous ses détails, à certains produits et que, pour certains autres produits, il soit nécessaire d'employer d'autres méthodes. Néanmoins, il est à espérer que tous les efforts seront entrepris dans tous les cas afin d'appliquer, dans la mesure du possible, la présente méthode horizontale et qu'il n'y aura d'écarts par rapport à la présente méthode qu'en cas d'absolue nécessité et pour des raisons techniques.

À la prochaine révision de la présente Norme internationale, il sera tenu compte de tous les renseignements disponibles à ce moment-là sur l'ampleur avec laquelle la présente méthode horizontale aura été suivie et les raisons pour lesquelles il aura été nécessaire d'y déroger dans le cas de produits particuliers. L'harmonisation des méthodes d'essai ne peut être instantanée et, pour certains groupes de produits, des Normes internationales et/ou nationales ne concordant pas avec la présente méthode horizontale existent peut-être déjà. Lors de la révision de telles normes, il serait souhaitable de les aligner sur la présente Norme internationale de sorte qu'à terme les seules divergences restantes se limiteront à celles qui sont nécessaires pour des raisons techniques bien établies.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 10272-1:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10272-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006>

Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. —

Partie 1: Méthode de recherche

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10272 décrit une méthode horizontale pour la recherche de *Campylobacter* spp.

Sous réserve des restrictions exposées dans l'introduction, elle est applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux, ainsi qu'aux échantillons environnementaux prélevés dans les secteurs de la production et de la manutention des aliments.

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

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

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/TS 11133-1, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 1: Guide général pour l'assurance de la qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire*

ISO/TS 11133-2:2003, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture*

3 Termes et définitions

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

3.1
Campylobacter
microorganismes formant des colonies caractéristiques sur des milieux sélectifs solides lorsqu'ils sont incubés à 41,5 °C (mais non à 25 °C) en atmosphère microaéroophile et possédant la mobilité caractéristique et les propriétés biochimiques décrites lorsque l'essai est réalisé conformément à la présente partie de l'ISO 10272

NOTE Les espèces le plus souvent rencontrées sont *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*. D'autres espèces ont toutefois été décrites (*Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis* et quelques autres).

3.2
recherche des Campylobacter
détermination de la présence ou de l'absence de ces microorganismes dans une quantité déterminée de produit, lorsque l'essai est exécuté conformément à la présente partie de l'ISO 10272

4 Principe

4.1 Généralités

La recherche de *Campylobacter* nécessite en général les étapes suivantes (voir l'Annexe A pour une représentation schématique du mode opératoire).

4.2 Enrichissement en milieu sélectif liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans le bouillon d'enrichissement de Bolton et homogénéisation.

Incubation en atmosphère microaéroophile à 37 °C pendant 4 h à 6 h, puis à 41,5 °C pendant 44 h ± 4 h.

4.3 Isolement et sélection pour confirmation

À partir des cultures obtenues en 4.2, deux milieux sélectifs solides sont ensemencés:

- une gélose modifiée à la céfopérazone, au charbon et au désoxycholate (gélose mCCD);
- un autre milieu sélectif solide basé sur un principe différent de celui du mCCD.

Incubation à 41,5 °C en atmosphère microaéroophile et observation au bout de 44 h ± 4 h, afin de détecter la présence de colonies présumées de *Campylobacter* selon leurs caractéristiques.

4.4 Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *Campylobacter* sur un milieu non sélectif (gélose Columbia au sang), puis confirmation par examens microscopiques et essais biochimiques et de croissance appropriés. Éventuellement, identification de l'espèce de *Campylobacter* par des essais biochimiques spécifiques et une recherche de sensibilité aux antibiotiques.

5 Milieux de culture et réactifs

5.1 Généralités

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO 7218, l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2.

NOTE En raison du nombre important de milieux de culture et de réactifs, il a été jugé préférable, pour la clarté du texte, de donner leur composition et leur préparation à l'Annexe B.

5.2 Milieu d'enrichissement liquide: le bouillon de Bolton

Voir B.1.

5.3 Milieu d'isolement sélectif: gélose modifiée à la céfopérazone, au charbon et au désoxycholate (gélose mCCD)

Voir B.2.

5.4 Milieux et réactifs de confirmation et d'identification

5.4.1 Gélose Columbia au sang

Voir B.3.

5.4.2 Bouillon Brucella

Voir B.4.

5.4.3 Réactif pour la recherche de l'oxydase

Voir B.5.

5.4.4 Solution de peroxyde d'hydrogène, à 3 % (fraction volumique)

5.4.5 Réactifs pour la recherche de l'hydrolyse de l'hippurate

Voir B.6.

5.4.6 Gélose Mueller Hinton au sang

Voir B.7.

5.4.7 Disques imprégnés d'acide nalidixique (30 µg) et de céfalotine (30 µg)

5.4.8 Disques imprégnés d'acétate d'indoxyle

Voir B.8.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10272-1:2006

standards/sist/a771c6a8-f779-4516-bdf2-85c2e5486634/iso-10272-1-2006

6 Appareillage et verrerie

Matériel courant de laboratoire de microbiologie (voir l'ISO 7218) et en particulier ce qui suit.

6.1 Appareil de stérilisation par chaleur sèche (four) ou humide (autoclave)

Voir l'ISO 7218.

6.2 Enceinte de séchage ou **étuve**, ventilée par convection, réglable entre 37 °C et 55 °C.

6.3 Étuve, réglable à 41,5 °C ± 1 °C.

6.4 Bains d'eau, réglables entre 25 °C ± 1 °C et 37 °C ± 1 °C, ou **étuves** réglables à 25 °C ± 1 °C et 37 °C ± 1 °C.

6.5 Bains d'eau, réglables entre 47 °C et 50 °C.

6.6 pH-mètre, d'une précision de 0,1 unité de pH à 25 °C.

6.7 Récipients, notamment des tubes à essai de 18 mm × 180 mm et de 9 mm × 180 mm pour la mise en culture, des tubes à hémolyse de 13 mm × 75 mm, des flacons se fermant avec un bouchon métallique non toxique et/ou des fioles de capacité appropriée, munis de fermetures appropriées.

6.8 Boîtes de Petri, en verre ou en plastique, de 90 mm à 100 mm de diamètre.

6.9 Pipettes graduées à écoulement total, à large ouverture et de capacité nominale de 1 ml et de 10 ml, graduées en divisions de 0,1 ml, et **pipettes Pasteur**.

6.10 Poires en caoutchouc, ou tout autre système de sécurité pouvant s'adapter sur les pipettes graduées.

6.11 Anses stériles, en platine iridiée, en nickel-chrome ou en plastique, d'environ 3 mm de diamètre, et **fils droits** constitués des mêmes matériaux, ou une **baguette** en verre ou en plastique.

Ne pas utiliser une anse en nickel-chrome pour l'essai de recherche de l'oxydase (voir 9.4.6).

6.12 Pincés, fines, à bouts ronds, en acier inoxydable.

6.13 Microscope, de préférence à contraste de phase, pour observer le mouvement caractéristique des *Campylobacter*.

6.14 Appareillage approprié à la culture en atmosphère microaérophile, permettant de maintenir tout au long de l'incubation une teneur constante de 5 % ± 2 % en oxygène, de 10 % ± 3 % en dioxyde de carbone, de ≤ 10 % en hydrogène (facultatif) et le complément en azote. Utiliser des récipients appropriés, étanches aux gaz, pouvant recevoir les boîtes de Petri et/ou les flacons ou les fioles d'une capacité d'environ 350 ml utilisés pour le milieu d'enrichissement, par exemple des jarres anaérobies.

NOTE 1 Une atmosphère microaérophile appropriée peut être obtenue en utilisant des sachets générateurs de gaz disponibles dans le commerce (suivre rigoureusement les instructions du fabricant, en particulier celles relatives au volume de la jarre et à la capacité du générateur). Alternativement, il est possible d'injecter dans la jarre, avant l'incubation, un mélange gazeux avec les proportions des différents gaz appropriés.

NOTE 2 Au lieu d'incuber le milieu d'enrichissement dans une atmosphère microaérophile, il est également possible d'incuber dans des flacons ou des fioles à bouchon à vis, qui ont été remplis de milieu d'enrichissement en laissant un espace vide de moins de 2 cm, et dont le bouchon est hermétiquement vissé.

7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ni modifié lors du transport ou de l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 10272. Voir la Norme internationale spécifique du produit concerné. S'il n'y a pas de Norme internationale spécifique traitant de l'échantillonnage du produit concerné, il est recommandé que les parties concernées se mettent d'accord à ce sujet.

Étant donné que les *Campylobacter* spp. sont très sensibles à la congélation, mais qu'ils survivent bien à basse température, il est recommandé de ne pas congeler les échantillons à examiner, mais de les conserver à $+3\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ et de les analyser le plus rapidement possible. Par ailleurs, prendre garde à prévenir la déshydratation des échantillons.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à la Norme internationale spécifique du produit concerné. S'il n'y a pas de Norme internationale spécifique, il est recommandé que les parties concernées se mettent d'accord à ce sujet.

9 Mode opératoire (voir sa représentation schématique à l'Annexe A)

9.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions

9.1.1 Voir l'ISO 6887 et l'ISO 8261.

9.1.2 En général, pour préparer la suspension mère, introduire une quantité de la prise d'essai (en masse ou en volume) dans neuf fois (en masse ou en volume) de milieu d'enrichissement, à savoir le bouillon de Bolton (5.2), de façon à obtenir un rapport de la prise d'essai au milieu d'enrichissement de 1:10 (masse ou volume/masse ou volume), et homogénéiser.

9.2 Enrichissement

Incuber la suspension mère (9.1.2) en atmosphère microaérophile (6.14) à 37 °C pendant 4 h à 6 h, puis à 41,5 °C pendant 44 h \pm 4 h.

9.3 Isolement

9.3.1 Utiliser la culture obtenue dans le milieu d'enrichissement (9.2) pour ensemercer à l'aide d'une anse stérile (6.11) la surface du premier milieu d'isolement sélectif, c'est-à-dire de la gélose mCCD (5.3).

Procéder de même avec le second milieu sélectif d'isolement choisi.

NOTE Il est préférable de choisir un deuxième milieu d'isolement basé sur un principe différent de celui de la gélose mCCD. Les milieux suivants peuvent être utilisés, par exemple: gélose Skirrow, gélose Karmali et gélose Preston (voir la Bibliographie).

9.3.2 Incuber les boîtes (9.3.1) à 41,5 °C en atmosphère microaérophile (6.14).

9.3.3 Après 44 h \pm 4 h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies caractéristiques et/ou suspectes de *Campylobacter*.