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

**Partie 2:
Technique par comptage des colonies**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)
*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for
detection and enumeration of Campylobacter spp. —*

Part 2: Colony-count technique

[ISO/TS 10272-2:2006](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>



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/TS 10272-2:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

© 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	1
4 Principe	2
4.1 Préparation des dilutions	2
4.2 Dénombrement	2
5 Milieux de culture et réactifs	2
5.1 Généralités	2
5.2 Diluant	2
5.3 Gélose modifiée déoxycholate céfopérazone charbon de bois (gélose mCCD)	3
5.4 Gélose au sang Columbia	4
5.5 Bouillon <i>Brucella</i>	5
5.6 Réactif pour détection de l'oxydase	5
6 Appareillage et verrerie	5
7 Échantillonnage	6
8 Préparation de l'échantillon d'essai	7
9 Mode opératoire	7
9.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions	7
9.2 Ensemencement et incubation	7
9.3 Comptage et sélection des colonies pour confirmation	7
9.4 Confirmation des espèces de <i>Campylobacter</i>	7
10 Expression des résultats	8
10.1 Comptage des colonies de <i>Campylobacter</i>	8
10.2 Méthode de calcul	9
10.3 Fidélité	10
11 Rapport d'essai	11
Annexe A (normative) Limites de confiance pour l'estimation des petits nombres de colonies	12
Bibliographie	13

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.

Dans d'autres circonstances, en particulier lorsqu'il existe une demande urgente du marché, un comité technique peut décider de publier d'autres types de documents normatifs:

- une Spécification publiquement disponible ISO (ISO/PAS) représente un accord entre les experts dans un groupe de travail ISO et est acceptée pour publication si elle est approuvée par plus de 50 % des membres votants du comité dont relève le groupe de travail;
- une Spécification technique ISO (ISO/TS) représente un accord entre les membres d'un comité technique et est acceptée pour publication si elle est approuvée par 2/3 des membres votants du comité.

Une ISO/PAS ou ISO/TS fait l'objet d'un examen après trois ans afin de décider si elle est confirmée pour trois nouvelles années, révisée pour devenir une Norme internationale, ou annulée. Lorsqu'une ISO/PAS ou ISO/TS a été confirmée, elle fait l'objet d'un nouvel examen après trois ans qui décidera soit de sa transformation en Norme internationale soit de son annulation.

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/TS 10272-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

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

L'ISO/TS 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 détection*
- *Partie 2: Technique par comptage des colonies (Spécification technique)*

Introduction

Compte tenu de la très grande variété des produits alimentaires, il est possible que cette méthode horizontale ne soit pas applicable dans tous ses détails à certains d'entre eux ou que pour certains autres il soit nécessaire d'utiliser des méthodes différentes. Néanmoins, tous les efforts doivent être faits dans tous les cas pour appliquer cette méthode horizontale chaque fois que possible et ne lui apporter des amendements que lorsque c'est absolument nécessaire.

Lors du réexamen périodique de la présente Spécification technique, il sera tenu compte de toutes les évolutions intervenues depuis sa publication et, notamment, de la mesure dont cette méthode horizontale aura été suivie ainsi que des raisons des dérogations dans le cas de produits particuliers. L'harmonisation des méthodes d'essai ne peut être réalisée de façon immédiate; de ce fait, il peut déjà exister, pour certains groupes de produits, des Normes internationales et/ou nationales qui ne concordent pas avec cette méthode horizontale. Lorsque de telles normes viendront en révision, il sera souhaitable de les aligner avec la présente Spécification technique et de ne conserver que les seules divergences justifiées indispensables pour des raisons techniques démontrées.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO/TS 10272-2:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/TS 10272-2:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

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

Partie 2: Technique par comptage des colonies

1 Domaine d'application

La présente Spécification technique décrit une méthode horizontale de dénombrement de *Campylobacter* spp.

Elle est applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux ainsi que, compte tenu des limites indiquées en introduction, aux échantillons environnementaux dans le domaine de la production et de la manipulation des produits 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).

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 qui forment des colonies caractéristiques sur des milieux sélectifs solides lors d'une incubation en microaérophilie à 41,5 °C mais pas à 25 °C et qui possèdent la mobilité, les propriétés biochimiques et la croissance caractéristiques décrites lors des essais conduits conformément à la présente Spécification technique

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

3.2
comptage de *Campylobacter*
nombre de *Campylobacter* comptés par millilitre ou par gramme d'échantillon d'essai lors d'un essai conduit conformément à la présente Spécification technique

4 Principe

4.1 Préparation des dilutions

Pour la préparation des dilutions décimales de l'échantillon pour essai, voir l'ISO 6887 et l'ISO 8261.

4.2 Dénombrement

Ensemencement du milieu sélectif solide à base de gélose modifiée de déoxycholate, céfopérazone et charbon de bois (gélose mCCD) par une quantité spécifiée d'échantillon pour essai si le produit est liquide ou de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

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

Incubation des boîtes à 41,5 °C sous atmosphère microaérobie pendant 40 h à 48 h.

Isolement des colonies présumées être des *Campylobacter* sur le milieu non sélectif de gélose au sang Columbia, puis confirmation par examen au microscope et essais biochimiques ainsi que de croissance adaptés.

Calcul du nombre de *Campylobacter* par millilitre ou par gramme d'échantillon d'essai à partir du nombre confirmé de colonies caractéristiques par boîte.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

5 Milieux de culture et réactifs

5.1 Généralités

Pour les méthodes courantes de laboratoire, se reporter à l'ISO 7218, l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2.

5.2 Diluant

Voir l'ISO 6887.

5.3 Gélose modifiée déoxycholate céfopérazone charbon de bois (gélose mCCD)

5.3.1 Milieu de base

5.3.1.1 Composition

Extrait de viande	10,0 g
Digestat enzymatique de tissus animaux	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Charbon de bois	4,0 g
Digestat enzymatique de caséine	3,0 g
Déoxycholate de sodium	1,0 g
Sulfate de fer(II)	0,25 g
Pyruvate de sodium	0,25 g
Agar	8,0 g à 18,0 g ^a
Eau	1 000 ml

^a En fonction du pouvoir gélifiant de l'agar.

5.3.1.2 Préparation

Dissoudre les composants de base ou le milieu de base complet déshydraté dans de l'eau et amener à ébullition. Ajuster le pH, si nécessaire, de manière à le porter après stérilisation à $7,4 \pm 0,2$ à 25 °C. Répartir le milieu de base dans des flacons de capacités appropriées. Stériliser à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

5.3.2 Solution antibiotique

5.3.2.1 Composition

Céfopérazone	0,032 g
Amphotéricine B	0,01 g
Eau	5 ml

5.3.2.2 Préparation

Dissoudre les composants dans de l'eau. Stériliser par filtration.

5.3.3 Milieu complet

5.3.3.1 Composition

Milieu de base (5.3.1)	1 000 ml
Solution antibiotique (5.3.2)	5 ml

5.3.3.2 Préparation

Ajouter la solution antibiotique au milieu de base refroidi à $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, puis mélanger avec soin. Verser environ 15 ml de milieu complet dans des boîtes de Petri stériles (6.8). Laisser se solidifier. Immédiatement avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de gélose, de préférence sans le couvercle et la surface gélosée tournée vers le bas, dans une étuve (6.2) pendant 30 min ou jusqu'à ce que la surface gélosée soit exempte d'humidité visible. Si elles ont été préparées à l'avance, ne pas conserver les boîtes de gélose non séchées pendant plus de 4 h à température ambiante ou à l'abri de la lumière à $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant plus de 7 jours.

5.3.3.3 Contrôle de performances

Pour les définitions de sélectivité et de productivité, se reporter à l'ISO/TS 11133-1. Pour les critères de performance, se référer à ISO/TS 11133-2:2003, Tableau B.5.

5.4 Gélose au sang Columbia

5.4.1 Milieu de base

5.4.1.1 Composition

Digestat enzymatique de tissus animaux	23,0 g
Amidon	1,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	8,0 g à 18,0 g ^a
Eau	1 000 ml

^a En fonction du pouvoir gélifiant de l'agar.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

5.4.1.2 Préparation

Dissoudre les composants de base ou le milieu de base complet déshydraté dans de l'eau et amener à ébullition. Ajuster le pH, si nécessaire, de manière à le porter après stérilisation à $7,3 \pm 0,2$ à 25 °C . Répartir le milieu de base dans des flacons de capacités appropriées. Stériliser à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

5.4.2 Sang de mouton défibriné stérile

5.4.3 Milieu complet

5.4.3.1 Composition

Milieu de base (5.4.1)	1 000 ml
Sang de mouton défibriné stérile (5.4.2)	50 ml

5.4.3.2 Préparation

Ajouter le sang de façon aseptique au milieu de base, refroidi à $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, et homogénéiser. Verser environ 15 ml de milieu complet dans des boîtes de Petri stériles (6.8). Laisser se solidifier. Immédiatement avant l'emploi, sécher soigneusement les boîtes de gélose, de préférence sans le couvercle et la surface gélosée tournée vers le bas, dans une étuve (6.2) pendant 30 min ou jusqu'à ce que la surface gélosée soit exempte d'humidité visible. Si elles ont été préparées à l'avance, ne pas conserver les boîtes de gélose non séchées pendant plus de 4 h à température ambiante ou à l'abri de la lumière à $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant plus de 7 jours.

5.4.3.3 Préparation

Pour les définitions de sélectivité et productivité, se référer à l'ISO/TS 11133-1.

Pour les critères de performances se référer à l'ISO/TS 11133-2 en utilisant les souches de contrôle de *C. coli* ATCC 43478 ou *C. jejuni* ATCC 33291. Ces dernières donnent une bonne croissance sur la gélose Columbia au sang après une incubation en microaérophilie pendant 24 h à 37 °C.

5.5 Bouillon *Brucella*

5.5.1 Composition

Digestat enzymatique de caséine	10,0 g
Digestat enzymatique de tissus animaux	10,0 g
Glucose	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Bisulfite de sodium	0,1 g
Eau	1 000 ml

5.5.2 Préparation

Dissoudre les composants de base ou le milieu de base complet déshydraté dans de l'eau, en chauffant, si nécessaire. Ajuster le pH, si nécessaire, de manière à le porter après stérilisation à $7,4 \pm 0,2$ à 25 °C. Répartir le milieu de base par aliquotes de 10 ml dans des tubes de capacité appropriée. Stériliser à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1008460b-7f47-45f9-9535-a65fc603d40e/iso-ts-10272-2-2006>

5.5.3 Contrôle de performances

Pour les définitions de sélectivité et productivité, se reporter à l'ISO/TS 11133-1. Pour les critères de performance, se référer à ISO/TS 11133-2:2003, Tableau B.4.

5.6 Réactif pour détection de l'oxydase

5.6.1 Composition

Dihydrochlorure de <i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyl-1,4-phénylènediamine	1,0 g
Eau	100 ml

5.6.2 Préparation

Dissoudre les composants dans de l'eau extemporanément.

6 Appareillage et verrerie

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

6.1 Appareillage pour stérilisation par voie sèche (étuve) ou humide (autoclave).

Voir l'ISO 7218.